

Hubungan antara interleukin-10 (IL-10) dan interferon- γ (IFN- γ) pada jaringan trofoblas dan sel sitotrofoblas: dengan kegagalan proses diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis trofoblas pada patogenesis preeklampsia

K. KEMAN

*Bagian/KSMF Obstetri dan Ginekologi
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
Rumah Sakit Umum Saiful Anwar
Malang*

Tujuan: Menganalisis hubungan antara IL-10 dan IFN- γ pada jaringan trofoblas dan sel sitotrofoblas, dengan proses diferensiasi, invasi dan pseudovaskulogenesis sel sitotrofoblas, pada patogenesis preeklampsia.

Rancangan/rumusan data: Studi potong lintang menggunakan sampel biopsi trofoblas plasenta dari persalinan preeklampsia ringan, preeklampsia berat dan eklampsia, dibandingkan dengan kontrol persalinan normal.

Bahan dan cara kerja: Tahap I: Preparasi histokimia, imunohistokimia, isolasi sel sitotrofoblas, imunositokimia sel sitotrofoblas, uji *dot blot*, *SDS-Page*, dan *Western blotting* protein IL-10, IFN- γ , MMP-9, HLA-G, dan VE-Cadherin dari isolat sitotrofoblas plasenta normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia. Tahap II dan III: Imunohistokimia jaringan trofoblas dan ELISA untuk pengukuran IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin; dari isolat sitotrofoblas plasenta normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia.

Hasil: Distribusi IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin, pada jaringan trofoblas normal = $44,80 \pm 8,28$ sel/ μm^2 , $41,60 \pm 4,38$ sel/ μm^2 , $43,40 \pm 5,46$ sel/ μm^2 , $46,30 \pm 5,08$ sel/ μm^2 , dan $28,40 \pm 3,31$ sel/ μm^2 ; preeklampsia ringan = $31,40 \pm 2,99$ sel/ μm^2 , $25,90 \pm 3,87$ sel/ μm^2 , $43,40 \pm 5,46$ sel/ μm^2 , $28,60 \pm 2,37$ sel/ μm^2 , dan $17,90 \pm 3,11$ sel/ μm^2 ; preeklampsia berat = $18,30 \pm 4,40$ sel/ μm^2 , $32,10 \pm 3,63$ sel/ μm^2 , $34,90 \pm 3,31$ sel/ μm^2 , $22,50 \pm 3,87$ sel/ μm^2 , dan $12,80 \pm 1,40$ sel/ μm^2 , dan eklampsia = $12,50 \pm 2,95$ sel/ μm^2 , $41,60 \pm 4,38$ sel/ μm^2 , $8,70 \pm 2,87$ sel/ μm^2 , $12,10 \pm 2,92$ sel/ μm^2 , dan $6,50 \pm 1,72$ sel/ μm^2 . Konsentrasi IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin, pada isolat sitotrofoblas normal = $206,07 \pm 3,55$ pg/ml, $85,21 \pm 0,80$ pg/ml, $3,58 \pm 0,25$ pg/ml, $23,70 \pm 0,15$ pg/ml, dan $5,74 \pm 0,38$ pg/ml; preeklampsia ringan = $192,59 \pm 6,07$ pg/ml, $87,35 \pm 2,27$ pg/ml, $3,58 \pm 0,25$ pg/ml, $22,99 \pm 0,43$ pg/ml, dan $5,24 \pm 0,34$ pg/ml preeklampsia berat = $186,25 \pm 9,05$ pg/ml, $87,62 \pm 2,66$ pg/ml, $2,82 \pm 0,24$ pg/ml, $22,93 \pm 0,17$ pg/ml, dan $4,96 \pm 0,32$ pg/ml; dan eklampsia = $183,64 \pm 3,34$ pg/ml, $89,64 \pm 1,94$ pg/ml, $2,57 \pm 0,29$ pg/ml, $22,71 \pm 0,58$ pg/ml, dan $4,89 \pm 0,52$ pg/ml.

Kesimpulan: Makin tinggi distribusi dan konsentrasi IL-10; makin rendah distribusi dan konsentrasi IFN- γ pada jaringan trofoblas dan sel sitotrofoblas; makin ringan penyakit preeklampsia. Makin rendah distribusi dan konsentrasi IL-10; makin tinggi distribusi dan konsentrasi IFN- γ pada jaringan trofoblas dan intrasel sitotrofoblas; makin rendah diferensiasi, invasi dan pseudovaskulogenesis sel sitotrofoblas; makin berat penyakit preeklampsia.

[Maj Obstet Ginekol Indones 2007; 31-2: 92-115]

Kata kunci: IL-10, IFN- γ , trofoblas, patogenesis preeklampsia

Objective: To analyze the relationship between IL-10 and IFN- γ within the trophoblast tissue and cells, with the differentiation, invasion, and pseudovasculogenesis process of the trophoblast cells; in the pathogenesis of preeclampsia.

Design/data identification: A cross sectional study of the specimen from a trophoblastic biopsy of placenta performing from the mild preeclampsia, severe preeclampsia, and eclampsia, compared to the normal delivery.

Material and methods: Stage I: Preparation of tissue-histochemistry, tissue-immuno-histochemistry, trophoblast cells isolation, trophoblast cells-immuno-histochemistry, dot blots, SDS-Page, and Western blotting of the IL-10, IFN- γ , MMP-9, HLA-G, and VE-Cadherin proteins, to the cytotrophoblast cells isolate performed from normal, mild preeclampsia, severe preeclampsia, and eclampsia delivery. Stage II and III: Trophoblastic tissue-immuno-histochemistry, and ELISA of the IL-10, IFN- γ , MMP-9, HLA-G, and VE-Cadherin proteins within cytotrophoblast cells isolate; performed from normal, mild preeclampsia, severe preeclampsia, and eclampsia delivery.

Results: Distribution of IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, and VE-Cadherin, within the normal trophoblastic tissue = 44.80 ± 8.28 cell/ μm^2 , 41.60 ± 4.38 cell/ μm^2 , 43.40 ± 5.46 cell/ μm^2 , 46.30 ± 5.08 cell/ μm^2 , and 28.40 ± 3.31 cell/ μm^2 ; mild preeclampsia = 31.40 ± 2.99 cell/ μm^2 , 25.90 ± 3.87 cell/ μm^2 , 43.40 ± 5.46 cell/ μm^2 , 28.60 ± 2.37 cell/ μm^2 , and 17.90 ± 3.11 cell/ μm^2 ; severe preeclampsia = 18.30 ± 4.40 cell/ μm^2 , 32.10 ± 3.63 cell/ μm^2 , 34.90 ± 3.31 cell/ μm^2 , 22.50 ± 3.87 cell/ μm^2 , and 12.80 ± 1.40 cell/ μm^2 , and eclampsia = 12.50 ± 2.95 cell/ μm^2 , 41.60 ± 4.38 cell/ μm^2 , 8.70 ± 2.87 cell/ μm^2 , 12.10 ± 2.92 cell/ μm^2 , and 6.50 ± 1.72 cell/ μm^2 . Concentration of IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, and VE-Cadherin, within isolate of cytotrophoblast normal = 206.07 ± 3.55 pg/ml, 85.21 ± 0.80 pg/ml, 3.58 ± 0.25 pg/ml, 23.70 ± 0.15 pg/ml, and 5.74 ± 0.38 pg/ml; mild preeclampsia = 192.59 ± 6.07 pg/ml, 87.35 ± 2.27 pg/ml, 3.58 ± 0.25 pg/ml, 22.99 ± 0.43 pg/ml, and 5.24 ± 0.34 pg/ml; severe preeclampsia = 186.25 ± 9.05 pg/ml, 87.62 ± 2.66 pg/ml, 2.82 ± 0.24 pg/ml, 22.93 ± 0.17 pg/ml, and 4.96 ± 0.32 pg/ml; and eclampsia = 183.64 ± 3.34 pg/ml, 89.64 ± 1.94 pg/ml, 2.57 ± 0.29 pg/ml, 22.71 ± 0.58 pg/ml, and 4.89 ± 0.52 pg/ml.

Conclusion: When IL-10 the trophoblast tissue decreases, so IFN- γ on the trophoblast tissue increases; so that the differentiation process, invasion, pseudovasculogenesis of the trophoblast tissue will decrease, and the preeclampsia will get more severe. When IL-10 on the trophoblast tissue increases, so IFN- γ on the trophoblast tissue will decrease; so that the differentiation process, invasion, pseudovasculogenesis of the trophoblast tissue will increase, and the preeclampsia will get milder or even no preeclampsia.

[Indones J Obstet Gynecol 2007; 31-2: 92-115]

Keywords: IL-10, IFN- γ , trophoblast, pathogenesis of preeclampsia

PENDAHULUAN

Preeklampsia sampai saat ini masih merupakan *disease of theories*. Saat ini paling tidak terdapat 6 teori etiologi yang mencoba menjelaskan patogenesis penyakit ini yaitu; Faktor Genetik, Trombofilia, Endokrinopati, Vaskulopati, Iskemik Plasenta, dan Maladaptasi Imun. Nampaknya secara klinis, preeklampsia merupakan suatu manifestasi akhir dari berbagai jalur patologis. Terdapat berbagai tumpang tindih pada beberapa jalur ini, terutama iskemik plasenta dan vaskulopati yang saling berhubungan sangat dekat.¹ Studi lebih lanjut tentang patofisiologi yang kompleks dari preeklampsia masih penting dikerjakan dan akan sangat berguna untuk deteksi dini, terapi, dan pencegahan penyakit ini.

Pada beberapa tahun terakhir ini, suatu pengertian tentang perkembangan plasentasi manusia mulai ramai dibicarakan, dan diduga berhubungan dengan patogenesis preeklampsia. Menurut pengertian ini, preeklampsia terjadi akibat dari suatu defisiensi proses plasentasi. Walaupun gejala klinis preeklampsia dapat terjadi pada setiap stase kehamilan sejak akhir mid-trimester kehamilan, ternyata awal proses patogenesis penyakit ini sudah dimulai sejak segera sesudah konsepsi yaitu pada waktu terjadinya proses plasentasi.² Di mana sel trofoblas fetal diduga gagal menginvasi secara lengkap arteri spiralis uterus, sehingga menyebabkan arteri spiralis uterus dengan resistensi tinggi, secara persisten.¹ Mekanisme yang pasti terjadinya invasi tidak lengkap ini belum sepenuhnya dimengerti, dan nampaknya merupakan peristiwa multifaktorial yang belum jelas benar.

Plasentasi secara biologi molekuler merupakan suatu rangkaian simultan proses diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis jaringan trofoblas plasenta; di mana sel sitotrofoblas pada vili tancap trofoblas melakukan berbagai perubahan transformasi fenotipe (dari fenotipe sel epitel menjadi fenotipe endotel) untuk menyesuaikan diri dengan fenotipe endotel maternal, dengan cara meregulasi ekspresi berbagai molekul adesinya; sekaligus berproliferasi ke dalam jaringan uterus mulai dari desidua sampai dengan sepertiga bagian miometrium maternal guna mencapai akhiran arteriole spiralis uteri; serta membuat koneksitas baru vaskuler maternal - fetal; sepanjang periode plasentasi dalam kehamilan.³

Menurut Teori Iskemik Plasenta, diduga bahwa iskemik plasenta yang terjadi adalah akibat dari kegagalan diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis trofoblas selama periode plasentasinya. (1) *Invading cytotrophoblasts* gagal melakukan beberapa aspek program diferensiasi, invasi, dan pseudovasku-

logensis mereka. Sitotrofoblas tidak dapat menginvasi sampai mencapai pembuluh darah maternal karena gagal melakukan berbagai proses diferensiasi sel-nya. (2) Sitotrofoblas tidak dapat meregulasi turun epithelial *specific marker* E-Cadherin. (3) Sedangkan Integrin- $\alpha 1$ menurun drastis pada sitotrofoblas. (4) Sekresi MMP-9 dari sel sitotrofoblas menurun drastis. (5) Sitotrofoblas tidak dapat mengekspresikan HLA-G. (6) Sel sitotrofoblas gagal memproduksi IL-10. (7) VE-Cadherin, suatu *endothelial specific marker*, gagal diregulasi naik pada sitotrofoblas yang menginvasi kolom distal *anchoring villi* dan sitotrofoblas yang memodulasi pseudovaskulogenesis pada pembuluh darah maternal. (8) Di samping itu ekspresi dari *VEGF family members* pada sitotrofoblas justru mengalami regulasi turun. Ekspresi VEGF-A pada sitotrofoblas mengalami regulasi turun. Ekspresi VEGFR-1 pada sitotrofoblas mengalami regulasi turun. (9) Tetapi sekresi VEGFR-1 dari sitotrofoblas justru meningkat.^{2,3,5}

Menurut Teori Maladaptasi Imun, pada preeklampsia diduga terjadi suatu kegagalan pembangkitan *localized immuno tolerance* pada *maternal-fetal interface*, sebagai respon terhadap masuknya antigen *semi-allograft* fetus. Hal ini diduga karena, sel sitotrofoblas dalam berbagai stase plasentasi di samping gagal mengekspresikan HLA-G suatu molekul major histocompatibility complex kelas I-B, juga gagal mensekresi beberapa molekul *pregnancy induced proteins*, dan sitokin IL-10. Sitokin ini gagal menghambat produksi IFN- γ maternal, dan gagal melakukan regulasi naik ekspresi berbagai molekul seperti HLA-G, MMP-9, VE-Cadherin, serta gagal melakukan regulasi turun ekspresi molekul MHC kelas I dan kelas II klasikal pada sel sitotrofoblas plasenta.⁶

Sebagai akibatnya, akan terjadi kegagalan proses plasentasi (diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis sitotrofoblas). Sel trofoblas fetal gagal menginvasi secara lengkap arteri spiralis uterus, gagal membuat koneksitas baru antara arteriole spiralis dengan sistem vaskuler plasenta, dan menyebabkan arteri spiralis uterus dengan resistensi tinggi secara persisten, serta akan menimbulkan hipoksia dan iskemik plasenta. Iskemik plasenta pada preeklampsia dapat mengakibatkan disfungsi endothel maternal secara sistemik maternal, walaupun dengan mekanisme yang sebagian besar masih belum diketahui. Kemungkinan melalui peran berbagai mediator plasenta, yang meliputi produk-produk *oxidative stress* yang dilepas ke dalam sirkulasi maternal, seperti *superoxide anion radicals (super-oxide; O₂-)* dan *hydrogen peroxide (H₂O₂-)*.² Konsep patogenesis preeklampsia ini yang kemudian dikenal se-

bagai Teori Iskemik Plasenta menurut Wochenschr.¹

Penelitian ini dalam ruang lingkup melakukan analisis hubungan antara 2 teori etiologi preeklampsia yaitu, Iskemik Plasenta dan Maladaptasi Imun pada patogenesis preeklampsia, khususnya hubungan antara IL-10 dan IFN- γ pada jaringan trofoblas dan isolat sitotrofoblas, terhadap proses patogenesis penyakit preeklampsia; dihubungkan dengan kegagalan proses diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis sitotrofoblas selama periode plasentasi.

Rumusan Masalah

Bagaimana hubungan antara Interleukin-10 (IL-10) dan Interferon-gamma (IFN- γ) pada jaringan trofoblas dan sel sitotrofoblas; terhadap kegagalan proses diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis sel sitotrofoblas; pada patogenesis preeklampsia?

Sub Masalah

1. Bagaimana melakukan karakterisasi subjek dan sampel penelitian?
 - a. Karakterisasi subjek penelitian
 - b. Karakterisasi dan isolasi sel sitotrofoblas.
 - c. Karakterisasi Molekul IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin pada jaringan dan sel sitotrofoblas normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia.
2. Bagaimana hubungan antara distribusi dan konsentrasi IL-10 dan IFN- γ pada jaringan trofoblas dan intrasel sitotrofoblas; dengan kejadian preeklampsia?
3. Bagaimana hubungan antara kegagalan proses diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis sitotrofoblas; dengan kejadian preeklampsia?

Tujuan Penelitian

Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan melakukan analisis, hubungan antara Interleukin-10 (IL-10) dan Interferon-gamma (IFN- γ) pada jaringan trofoblas dan sel sitotrofoblas; terhadap proses diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis sel sitotrofoblas; pada patogenesis preeklampsia.

Tujuan Khusus

1. Melakukan karakterisasi subjek dan sampel penelitian.
 - a. Karakterisasi subjek penelitian.
 - b. Karakterisasi dan isolasi sel sitotrofoblas.
 - c. Karakterisasi Molekul IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin pada jaringan dan

sel sitotrofoblas normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia.

2. Menganalisis hubungan antara distribusi dan konsentrasi IL-10 dan IFN- γ pada jaringan trofoblas dan intrasel sitotrofoblas; dengan kejadian preeklampsia.
3. Menganalisis hubungan antara kegagalan proses diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis sitotrofoblas; dengan kejadian preeklampsia.

Manfaat Penelitian

Manfaat Keilmuan

1. Menambah Informasi ilmiah tentang:
 - a. Karakterisasi dan isolasi sel sitotrofoblas.
 - b. Karakterisasi Molekul IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin pada jaringan dan sel sitotrofoblas normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia.
2. Menambah informasi ilmiah tentang, hubungan antara distribusi dan konsentrasi IL-10 dan IFN- γ pada jaringan trofoblas dan intrasel sitotrofoblas; dengan kejadian preeklampsia.
3. Menambah informasi ilmiah tentang hubungan antara proses diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis sitotrofoblas; dengan kejadian preeklampsia.

Manfaat Klinis

Merupakan upaya awal pengembangan terapi immunosupresif, khususnya terapi menggunakan sitokin IL-10 pada perbaikan proses plasentasi, baik untuk pencegahan maupun pengobatan preeklampsia-eklampsia di masa mendatang.

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

Kerangka Konsep Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan analisis hubungan antara 2 teori etiologi preeklampsia yaitu, Iskemik Plasenta dan Maladaptasi Imun pada patogenesis terjadinya preeklampsia, melalui peran proses diferensiasi, invasi dan pseudovaskulogenesis trofoblas selama periode plasentasi.

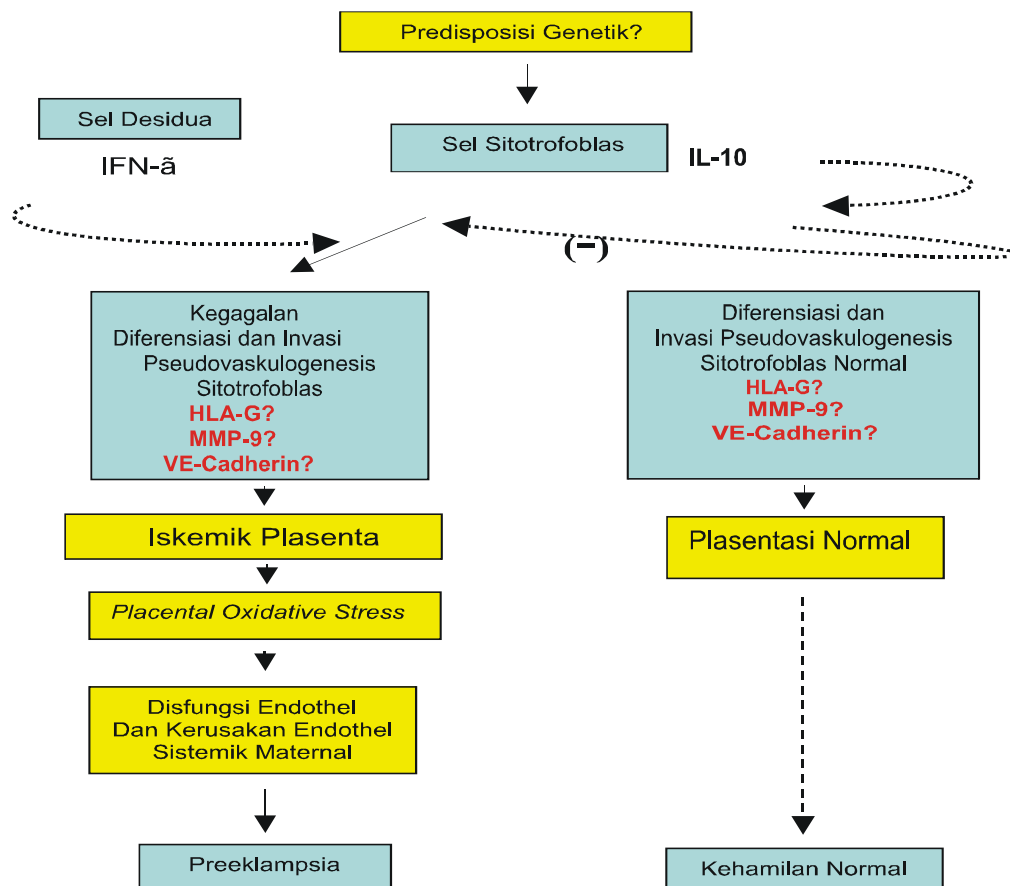
Menurut Teori Maladaptasi Imun, diduga terjadi suatu kegagalan pembangkitan *localized immune tolerance* pada *maternal-fetal interface*, sebagai respon terhadap masuknya antigen *semi-allograft* fetus. Hal ini diduga karena, sel sitotrofoblas dalam berbagai stase plasentasi di samping gagal mengekspresikan HLA-G suatu molekul *major histocompatibility complex* kelas I-B, juga gagal secara aktif

mensekresi beberapa molekul *pregnancy induced proteins*, dan sitokin IL-10. Sitokin ini gagal menghambat produksi IFN- γ maternal, dan gagal melakukan regulasi naik ekspresi berbagai molekul seperti HLA-G, MMP-9, VE-Cadherin, serta gagal melakukan *down regulation* ekspresi molekul MHC klas I dan klas II klasikal pada sel sitotrofoblas plasenta.⁶

Sebagai akibatnya, akan terjadi kegagalan proses plasentasi (diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis sitotrofoblas). Sel trofoblas fetal gagal menginvasi secara lengkap arteri spiralis uterus, gagal membuat koneksitas baru antara arteriole spiralis dengan sistem vaskuler plasenta, dan menyebabkan arteri spiralis uterus dengan resistensi tinggi secara persisten, serta akan menimbulkan hipoksia dan iskemik plasenta. Iskemik plasenta pada preeklampsia dapat mengakibatkan disfungsi endothel maternal secara sistemik maternal, walaupun dengan mekanisme yang sebagian besar masih belum diketahui, mengakibatkan terjadinya preeklampsia.

Kemungkinan melalui peran berbagai mediator plasenta, yang meliputi produk-produk *oxidative stress* yang dilepas ke dalam sirkulasi maternal, seperti *superoxide anion radicals* (*superoxide*; O_2^-) dan *hydrogen peroxide* (H_2O_2).² Konsep patogenesis preeklampsia ini yang kemudian dikenal sebagai Teori Iskemik Plasenta.¹

Dari konsep Teori Maladaptasi Imun, dipilih 2 variabel penting yaitu IL-10 dan IFN- γ karena beberapa alasan; (1) Kedua molekul ini merupakan sitokin yang paling berperan pada keasingan (*foreignness*) antigen dari suatu *graft* (dalam hal ini *semi allograft* sel trofoblas fetal). Dikatakan bahwa IL-10 meningkatkan ekspresi molekul MHC non klasikal yaitu HLA-G, yang sangat penting pada proses diferensiasi sel trofoblas selama periode plasentasinya. (2) Selain itu IL-10 selain menekan produksi sitokin IFN- γ dari komponen maternal (sel T limfosit, Makrofag, Sel NK, dan LGLs teraktivasi), juga meningkatkan ekspresi molekul HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin, yang berperan penting dalam



Gambar 1. Kerangka Konsep Penelitian. Penelitian ini secara khusus bermaksud untuk menganalisis; kontroversi hubungan IL-10 dan IFN- γ terhadap proses patogenesis penyakit preeklampsia (sesuai dengan Teori Maladaptasi Imun); dihubungkan dengan kegagalan proses diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis sitotrofoblas selama periode plasentasi konseptus (sesuai dengan Teori Iskemik Plasenta); pada patogenesis preeklampsia. (Bidang biru=Teori Genetik, bidang merah muda=Teori Maladaptasi Imun, bidang abu-abu=Teori Iskemik Plasenta, bidang kuning=gejala klinis).

proses diferensiasi, invasi dan pseudovaskulogenesis sitotrofoblas. (3) Keduanya bekerja secara resiprokal pada *maternal fetal interface*, menentukan keseimbangan usaha *survival* dari *fetal allograft* menghadapi serangan (*attack*) respon imun maternal yang normal terjadi. Hal ini dimungkinkan karena kedua sitokin ini mempunyai struktur reseptor yang serupa. Kesimbangan antara kedua sitokin ini pada *maternal-fetal interface* menentukan apakah akan terjadi toleransi imun maternal atau rejeksi imun maternal pada *fetal semi allograft*.^{2,4} (4) Masih terdapat kontroversi mengenai asal sumber IL-10 dan IFN- γ . Suatu kelompok peneliti menduga bahwa IL-10 dan IFN- γ berasal dari sumber yang sama, yaitu dari komponen maternal (sel T limfosit, Makrofag, Sel NK, dan LGL teraktivasi).⁷ Sedangkan Kelompok peneliti lain menduga bahwa, sel sitotrofoblas secara aktif mensekresi IL-10, sebagai bagian dari proses diferensiasi, invasi dan pseudovaskulogenesis sepanjang periode plasentasi fetal.^{3,5}

Sedangkan dari konsep Teori Iskemik Plasenta, ditentukan 3 variabel yaitu HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin, yang merupakan suatu *specific marker molecules* yang relevan dan cukup representatif untuk mengukur proses diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis sitotrofoblas, karena beberapa hal; (1) HLA-G merupakan molekul MHC (*Major Histocompatibility Complex*) non klasikal yang sangat spesifik pada sel trofoblas, dan diduga hanya sel trofoblas yang mampu mengekspresikan molekul ini. Ekspresi HLA-G berperan penting untuk diferensiasi sel sitotrofoblas yaitu dengan cara membungkam (*muted*) respon imun maternal normal, menghindarkan sel sitotrofoblas dari serangan (*attack*) sel sitotoksik sistem imun maternal (sel T limfosit, Makrofag, sel NK, dan LGLs). (2) MMP-9 suatu enzim kolagenase yang berperan penting pada proses invasi sel sitotrofoblas, dengan cara melakukan aktivitas mendegradasi protein kolagen dan laminin, bagian dari ECM jaringan desidua dan miometrium maternal, sehingga mempertinggi daya invasi sel sitotrofoblas. (3) Sedangkan Ekspresi VE-Cadherin berperan penting pada proses pseudovaskulogenesis sitotrofoblas, dengan cara melakukan mimikri terhadap endotel vaskuler maternal, sehingga tidak dikenal sebagai antigen asing oleh sistem imun maternal.^{2,4}

Hipotesis Penelitian

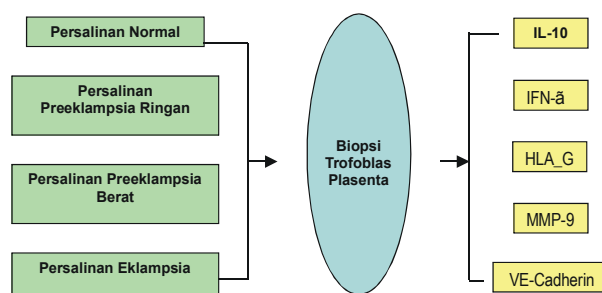
Dari kerangka konsep penelitian tersebut di atas dapat disusun suatu praduga pemikiran sebagai berikut:

1. Makin tinggi distribusi dan konsentrasi IL-10; makin rendah distribusi dan konsentrasi IFN- γ pada jaringan trofoblas dan sel sitotrofoblas; makin tinggi diferensiasi, invasi, dan pseudo vaskulogenesis sel sitotrofoblas; makin ringan penyakit preeklampsia.
2. Makin rendah distribusi dan konsentrasi IL-10; makin tinggi distribusi dan konsentrasi IFN- γ pada jaringan trofoblas dan intrasel sitotrofoblas; makin rendah diferensiasi, invasi dan pseudovaskulogenesis sel sitotrofoblas; makin berat penyakit preeklampsia.

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Untuk membuktikan hipotesis yang telah ditetapkan maka dilakukan serangkaian penelitian observasional analitik potong lintang sampel biopsi trofoblas plasenta pada persalinan preeklampsia ringan, preeklampsia berat dan eklampsia, dengan kontrol persalinan normal. Penelitian ini dibagi menjadi 3 tahap penelitian yaitu; (1) Tahap I: Karakterisasi Subjek dan Sampel Penelitian. (2) Tahap II: Analisis Hubungan Antara IL-10 dan IFN- γ dengan Patogenesis Preeklampsia, dan (3) Tahap III: Hubungan Antara Proses Diferensiasi, Invasi, dan Pseudovaskulogenesis dengan Patogenesis Preeklampsia.



Gambar 2. Diagram Alur Aplikasi Desain Studi Potong Lintang. Persalinan dengan preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan Eklampsia, dan persalinan normal sebagai kontrol. Dilakukan biopsi trofoblas segera sesudah plasenta lahir. Dilakukan pemeriksaan distribusi dan konsentrasi molekul IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin pada jaringan trofoblas dan sel sitotrofoblas plasenta secara imunohistokimia dan ELISA.

Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Tempat penelitian dilaksanakan di Kamar Bersalin RS Saiful Anwar Malang dan Lab Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, selama kurang lebih 6 bulan selama periode 1 November 2004 sampai dengan 30 April 2005.

Populasi dan Sampel

Populasi yang diteliti adalah ibu yang melahirkan di kamar bersalin RS Saiful Anwar Malang selama periode penelitian. Sampel penelitian dibagi dalam 2 kelompok yaitu kelompok kasus dan kelompok kontrol. Kelompok kasus adalah persalinan preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Sedangkan kelompok kontrol adalah persalinan normal yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Pengumpulan sampel pasien ini dilakukan secara total sampling selama periode penelitian. Besar sampel adalah 40 persalinan, terdiri dari masing-masing 10 persalinan normal, 10 preeklampsia ringan, 10 preeklampsia berat, dan 10 eklampsia. Segera setelah plasenta lahir dilakukan biopsi jaringan trofoblas pada sisi maternal plasenta. Dari 40 sampel persalinan di atas diperoleh 40 sampel biopsi trofoblas plasenta, terdiri dari masing-masing 10 sampel biopsi trofoblas plasenta normal, 10 preeklampsia ringan, 10 preeklampsia berat, dan 10 eklampsia.

Prosedur Penelitian

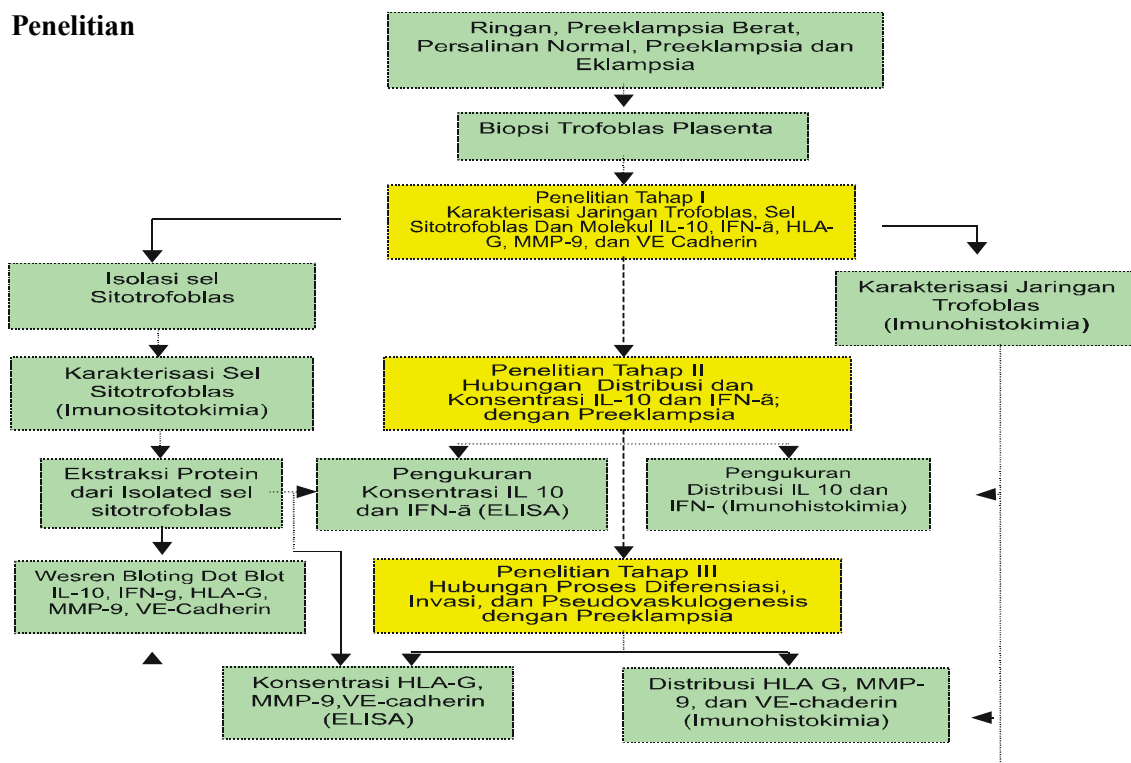
Prosedur penelitian yang dilakukan dalam peneliti-

an tahap I yaitu, preparasi histokimia, imunohistokimia, isolasi sel sitotrofoblas, imunositokimia sel sitotrofoblas, uji *dot blot*, *SDS-Page*, dan *Western blotting* protein IL 10, IFN- γ , MMP-9, HLA-G, dan VE-Cadherin; Tahap II yakni, imunohistokimia jaringan trofoblas, isolasi sel sitotrofoblas, uji *dot blot*, *SDS-Page*, dan *Western blotting* protein IL 10 dan IFN- γ , serta ELISA untuk pengukuran konsentrasi IL 10 dan IFN- γ ; Tahap III yakni, imunohistokimia jaringan trofoblas, isolasi sel sitotrofoblas, uji *dot blot*, *SDS-Page*, dan *Western blotting* protein HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin, serta ELISA untuk pengukuran konsentrasi HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin. Secara simultan dilakukan prosedur ini terhadap sampel jaringan trofoblas dan isolat sel sitotrofoblas dari biopsi plasenta persalinan normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia.

Analisa Statistik

Untuk menganalisis data yang diperoleh pada penelitian ini digunakan beberapa uji statistik yakni, uji perbedaan *Chi-square*, uji keselarasan Komogorov-Smirnoff, analisis multi varian satu arah ANOVA, uji homogenitas Tukey dan *Post Hoc test*.

Skema Penelitian



Gambar 3. Skema Tahapan Penelitian dan Alur Pemeriksaan Laboratorium. Penelitian ini dibagi menjadi 4 tahap. Tahap I: Karakterisasi Jaringan Trofoblas, Sel Sitotrofoblas dan Molekul IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin. Tahap II: Hubungan Distribusi dan Konsentrasi IL-10 dan IFN- γ ; dengan Preeklampsia. Tahap III: Hubungan Proses Diferensiasi, Invasi, dan Pseudovaskulogenesis dengan Preeklampsia.

HASIL PENELITIAN

Tahap I: Isolasi dan Karakterisasi Sel Sitotrofoblas, IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin**Karakterisasi Pasien**

Pada penelitian ini berhasil dikumpulkan 40 sampel biopsi jaringan trofoblas dari 10 penderita persalinan normal, 10 persalinan preeklampsia ringan, 10 persalinan preeklampsia berat, dan 10 persalinan eklampsia. Masing-masing pasien dipilih secara acak sesuai dengan kriteria kasus, kontrol, inklusi, dan eksklusi. Umur pasien termuda adalah 19 tahun dan umur tertua adalah 25 tahun. Usia kehamilan termuda adalah 38 minggu sedangkan usia kehamilan tertua adalah 40 minggu. Hasil nama, umur, usia kehamilan, dan register penderita disusun dalam tabel daftar subjek dalam lampiran. Setelah dilakukan uji homogenitas secara *Chi-square* pada umur rerata tiap kelompok dan Kolmogorov-Smirnov pada usia kehamilan rerata tiap kelompok untuk menguji keselarasan data subjek, tidak terdapat perbedaan bermakna pada rerata usia subjek dan usia kehamilan pada kelompok persalinan normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia.

Tabel 1. Distribusi pasien menurut umur dan usia kehamilan

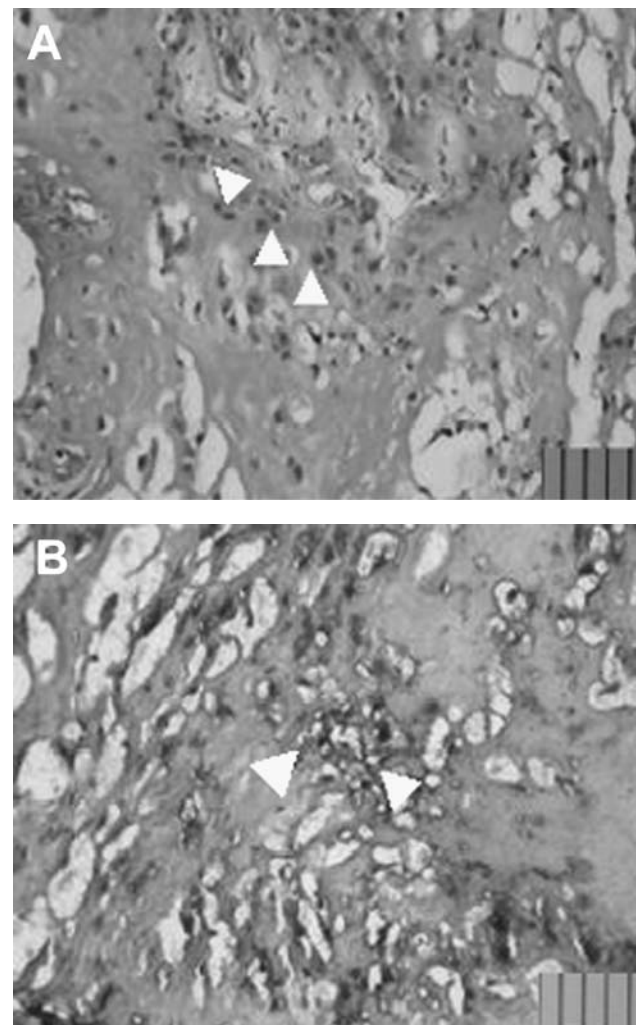
Kelompok	Jumlah Pasien (n)	Rerata Usia	Rerata Usia
		Pasien \pm SD (tahun)	Kehamilan \pm SD (minggu)
Normal	10	21,54 \pm 1,66	39,62 \pm 0,51
Preeklampsia Ringan	10	22,10 \pm 1,20	39,70 \pm 0,48
Preeklampsia Berat	10	23,00 \pm 1,20	39,60 \pm 0,48
Eklampsia	10	21,38 \pm 1,19	39,31 \pm 0,48

Karakterisasi Sel Sitotrofoblas Plasenta**Sel Sitotrofoblas pada Jaringan Trofoblas**

Sel-sel sitotrofoblas dibedakan dengan sel sinsisiotrofoblas berdasarkan morfologinya:

(1) Pada *slide* preparat histokimia dengan pewarnaan HE dan mengamati di bawah mikroskop cahaya dari berbagai pembesaran; Nampak sel sitotrofoblas sebagai sel-sel tunggal dengan batas sel yang tegas, dan dengan inti tunggal yang mudah dibedakan. Sel sinsisiotrofoblas nampak sebagai sel-sel dengan sitoplasma yang amorphous, tanpa batas sel, dengan inti ganda, dan dengan bentuk maupun ukuran yang sangat beragam. (Gambar 25); dan

(2) Memulas protein sitokeratin yang ada di dinding sel sitotrofoblas dengan metode imunohistokimia dengan memakai monoklonal anti sitokeratin PKK1 yang karakteristik pada sel sitotrofoblas⁸ dan antibodi sekunder *mouse anti biotin conjugate* yang diberi zat kromogen H₂O₂ DAB yang memberikan warna coklat. Nampak sel sitotrofoblas dengan inti tunggal, sitoplasma amorf, dan dinding sel nampak jelas karena terwarnai kuat kecoklatan oleh pewarnaan H₂O₂ DAB.



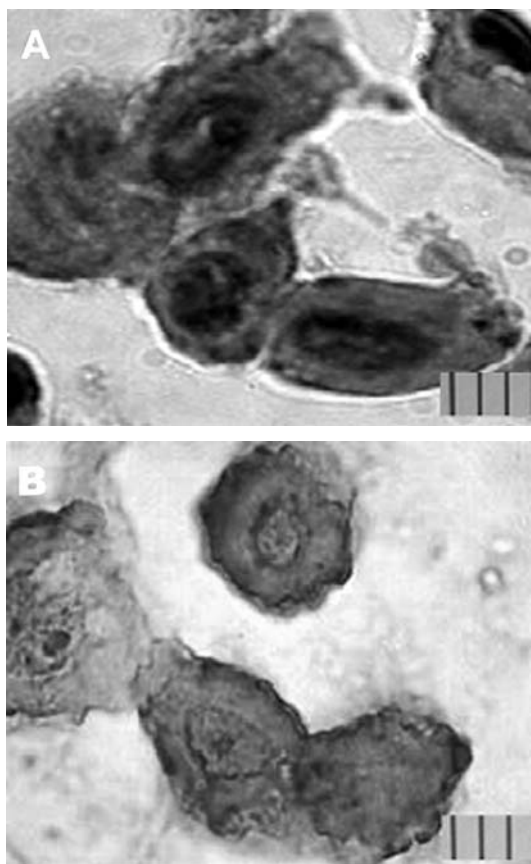
Gambar 4. A. Jaringan Trofoblas dengan Pewarnaan Hematoxylen Eosin (HE staining). Nampak sel sitotrofoblas di antara sel sinsisiotrofoblas, dengan dinding sel yang tegas, sitoplasma kemerahan dan inti tunggal kebiruan. Sel sinsisiotrofoblas nampak sebagai kumpulan sel dengan batas tidak jelas, sitoplasma merah pudar dan inti yang multipel.

B. Jaringan trofoblas dipulas secara Imunohistokimia. Nampak sel sitotrofoblas dengan inti tunggal, sitoplasma amorf, dan dinding sel nampak jelas karena terwarnai kuat kecoklatan oleh pewarnaan H₂O₂ DAB. Nampak sel sitotrofoblas diantara sel sinsisiotrofoblas, dengan dinding sel yang tegas, inti tunggal. Sel sinsisiotrofoblas nampak sebagai kumpulan sel dengan batas tidak jelas. (→ sel sitotrofoblas; 1 bar=0,01 mm)

Sel Sitotrofoblas pada Isolat Sel

Setelah dilakukan isolasi sel sitotrofoblas dari jaringan trofoblas plasenta maka dilakukan juga karakterisasi sel sitotrofoblas pada hasil isolat sel yang telah dikerjakan. Karakterisasi ini dilakukan dengan cara:

(1) Pada *slide* preparat histokimia dengan pewarnaan HE dan mengamati di bawah mikroskop cahaya dari berbagai pembesaran; Nampak sel sitotrofoblas sebagai sel-sel tunggal dengan batas sel yang tegas, dan dengan inti tunggal.



Gambar 5. A. Hasil isolasi sitotrofoblas dengan metode enzimatik yang diwarnai dengan Heatoxilen Eosin. Nampak sel sitotrofoblas dengan inti tunggal berwarna kebiruan dan sitoplasma amorf berwarna kemerahan dengan dinding sel yang tegas.

B. Hasil isolasi sitotrofoblas dengan metode enzimatik yang diwarnai secara imunohistokimia menggunakan mAb anti sito-keratin. Nampak sel sitotrofoblas dengan inti tunggal, sitoplasma amorf, dan dinding sel nampak jelas karena terwarnai kuat kecoklatan oleh pewarnaan H_2O_2 DAB. (1 bar=0,01 mm)

(2) Memulas protein sitokeratin yang ada di dinding sel sitotrofoblas dengan metode imunohistokimia dengan memakai monoklonal antibodi anti sitokeratin PKK1 yang karakteristik pada sel sitotrofoblas, dan antibodi sekunder *mouse anti biotin conjugate* yang diberi zat kromogen H_2O_2 DAB

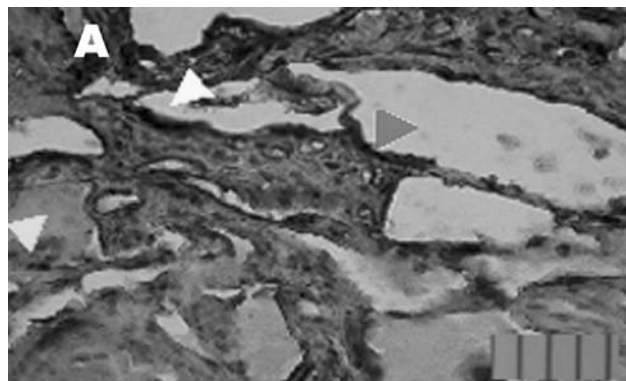
yang berwarna coklat. Nampak sel sitotrofoblas dengan inti tunggal, sitoplasma amorf, dan dinding sel nampak jelas karena terwarnai kuat kecoklatan oleh pewarnaan H_2O_2 DAB.

Karakterisasi IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, DAN VE-Cadherin

Keberadaan protein IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin dari jaringan trofoblas dan isolat sel sitotrofoblas plasenta diuji karakterisasinya dengan memakai antibodi *Mouse Monoclonal Anti* IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin. Kemudian dilakukan uji karakterisasi dengan (1). pewarnaan imunohistokimia (2). Uji *SDS-Page* (3). *Western blotting*, dan (4) *Dot blot*. Dari uji tersebut di atas ingin dibuktikan keberadaan molekul-molekul protein IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin pada sel sitotrofoblas pada jaringan trofoblas plasenta.

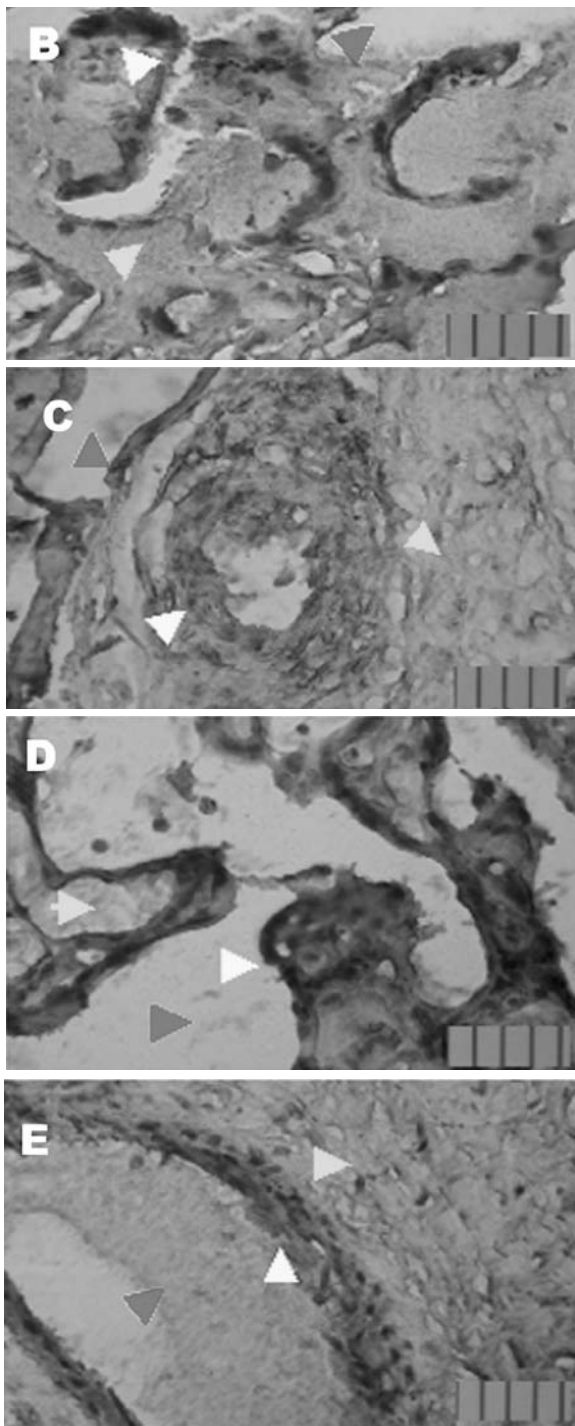
Imunohistokimia Molekul IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin

Keberadaan molekul IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin pada jaringan trofoblas dikerjakan secara imunohistokimia dengan menggunakan antibodi primer *Mouse Monoclonal Anti* IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin (Santa Cruz Inc) dengan antibodi sekunder *Mouse Anti Biotin Conjugate* yang divisualisasi menggunakan bahan kromogen 3,3-diamidobenzidine-tetrahydrochloride (DAB- H_2O_2) untuk molekul IL-10 dan Amino Ethyl Carbazole-tetrahydrochloride (AEC- H_2O_2) untuk molekul IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin, yang ditandai dengan warna kecoklatan (DAB- H_2O_2), atau warna kemerahan (AEC- H_2O_2) pada sitoplasma sel trofoblas yang mengandung molekul-molekul ini.



Gambar 6. Imunohistokimia molekul IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin pada Jaringan Trofoblas.

A. Warna coklat menunjukkan keberadaan molekul IL-10 intra sitoplasmik sel sitotrofoblas.

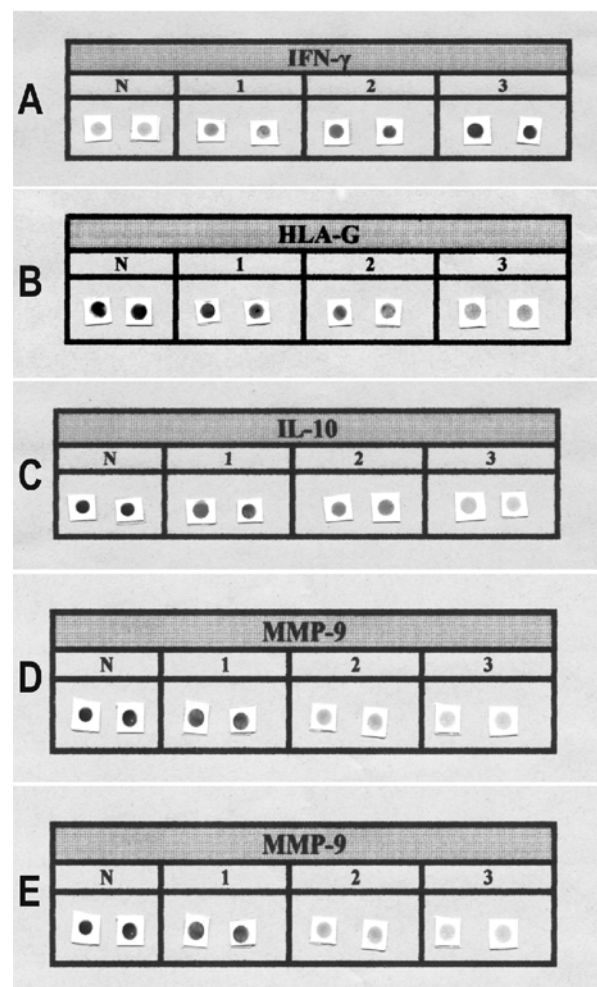


Gambar 6B-E. Imunohistokimia molekul IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin pada Jaringan Trofoblas.
B. Warna kemerahan menunjukkan keberadaan molekul IL-10 intra sitoplasmik sel sitotrofoblas.
C. Warna kemerahan menunjukkan keberadaan molekul HLA-G intra sitoplasmik sel sitotrofoblas.
D. Warna kemerahan menunjukkan keberadaan molekul MMP-9 intra sitoplasmik sel sitotrofoblas.
E. Warna kemerahan menunjukkan keberadaan molekul VE-Cadherin intra sitoplasmik sel sitotrofoblas. Tanda panah kuning menunjukkan sel sitotrofoblas. Tanda panah merah menunjukkan intervillous space. Tanda panah hijau menunjukkan sel-sel sinsiotrofoblas. (1bar=0,01 mm)

Uji karakterisasi protein IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin pada isolat sel sitotrofoblas dikerjakan sesuai metode *Western blotting* dan *dot blot* dengan menggunakan antibodi primer *Mouse Monoclonal Antibody* IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin (Santa Cruz Inc) dengan antibodi sekunder *Mouse Anti Biotin Conjugate* yang dengan kromogen *Western Blue*.

Metode dot blot

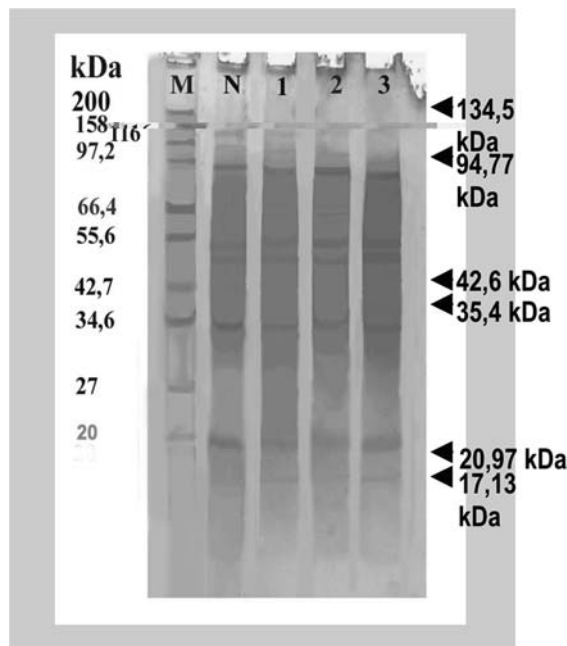
Uji spesifisitas bertujuan untuk membuktikan bahwa isolat protein IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin mampu bereaksi dengan *Mouse Monoclonal Anti* IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin.



Gambar 7. Uji *Dot blot* protein IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9 dan VE-Cadherin pada jaringan trofoblas dan isolate sitotrofoblas. (A) Reaksi antigen protein IL-10 dengan mAb *mouse monoclonal anti* IL-10; (B) Reaksi antigen protein IFN- γ , dengan mAb *mouse monoclonal anti* IFN- γ ; (C) Reaksi antigen protein HLA-G, dengan *mouse monoclonal anti* HLA-G; (D) Reaksi antigen protein HLA-G, dengan *mouse monoclonal anti* MMP-9; (E) Reaksi antigen protein VE-Cadherin, dengan mAb *mouse monoclonal anti* VE-Cadherin.

Metode SDS-Page

Hasil isolasi berbagai protein sel sitotrofoblas dilakukan Uji *SDS-Page*, yang bertujuan untuk mengetahui berat molekul protein yang diisolasi dari sel sitotrofoblas.



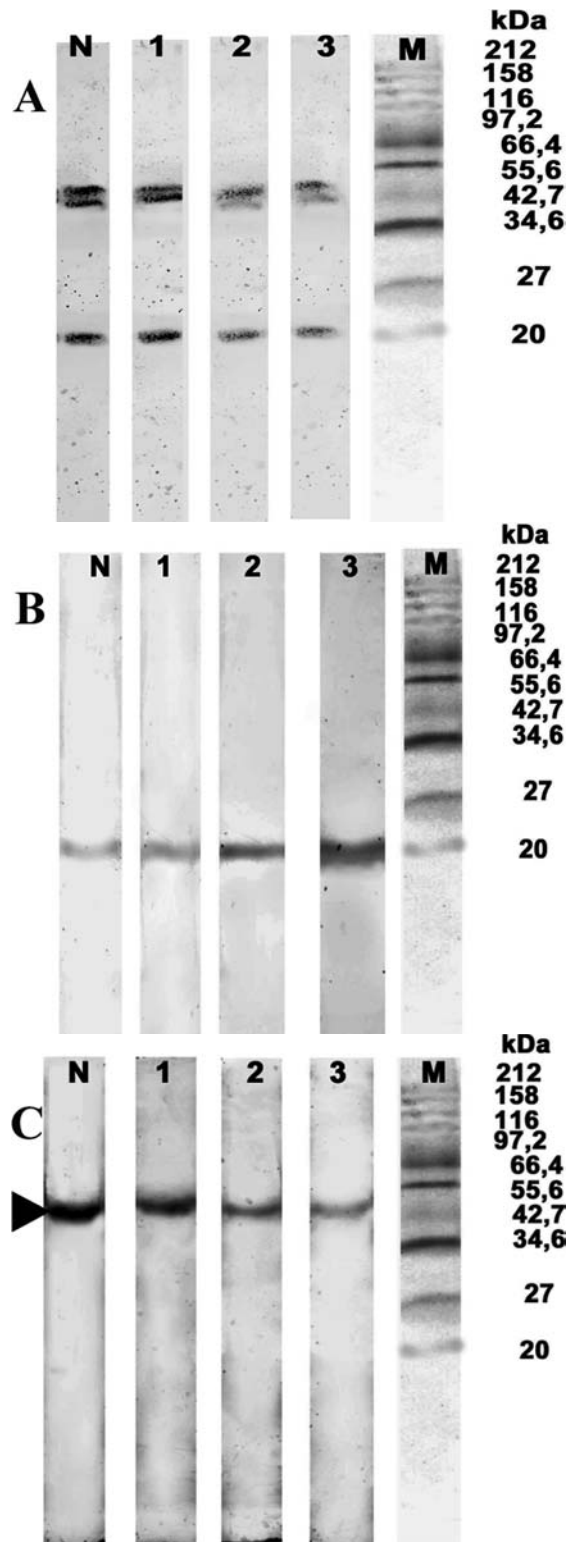
Gambar 8. Elektroforegram protein dengan BM 134,5 kDa; 94,77 kDa; 42,6 kDa; 35,4 kDa; dan 20,97 kDa. Protein yang diperoleh dari sel sitotrofoblas plasenta dilakukan elektroforesis dengan metode *SDS-Page* 10%. Tampak pada lane N (Normal), 1 (preeklampsia ringan), 2 (preeklampsia berat), dan 3 (eklampsia) pita dengan berat molekul 134,5 kDa; 94,77 kDa; 42,6 kDa; 35,4 kDa; dan 20,97 kDa. (Pengulangan 3x; M: *marker* protein; kDa: kilodalton)

Metode Western blotting

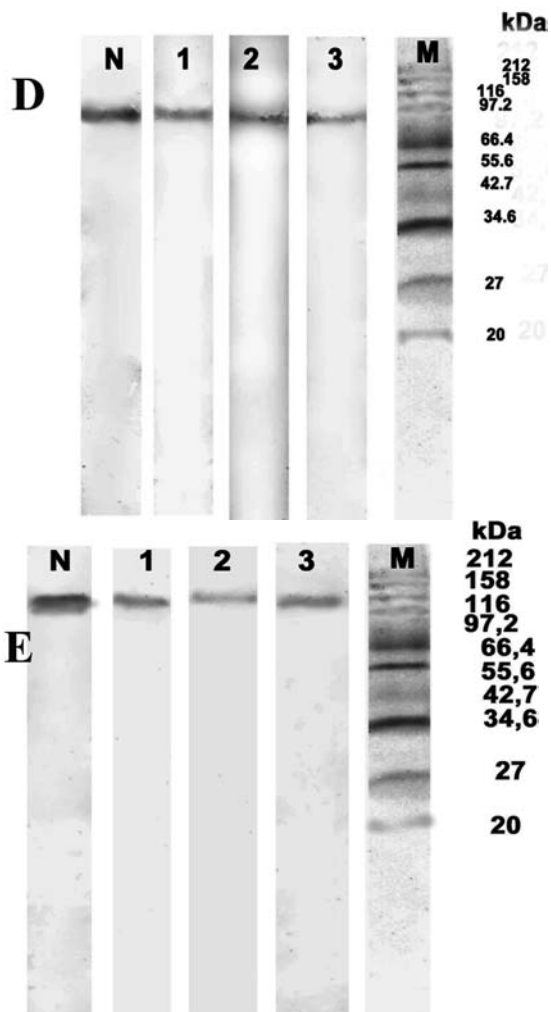
Cara lain untuk mengetahui bahwa molekul protein dengan berat molekul=134,5 kDa; 94,77 kDa; 42,6 kDa; 35,4 kDa; dan 20,97 kDa, adalah benar IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin dilakukan uji spesifisitas dengan metode *Western blotting*. Hasil gel *SDS-Page* ditransfer ke dalam membran nitroselulosa, untuk selanjutnya dilakukan uji spesifisitasnya secara metode *Western blotting* dengan menggunakan antibodi primer *mouse monoclonal anti* IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin dengan antibodi sekunder anti *mouse biotin conjugate* IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin yang dilabel dengan zat warna *Western Blue*.

Tahap II: Hubungan antara IL-10 dan IFN- γ dengan Patogenesis Preeklampsia

Penelitian tahap II secara khusus bermaksud untuk menganalisis; kontroversi hubungan IL-10 dan IFN- γ



Gambar 9A-C. Uji *Western blotting* menunjukkan bahwa: (A) *Mouse monoclonal anti* IL-10 mampu bereaksi dengan molekul protein dengan BM=20,97 kDa dan protein dengan BM=35,39 kDa. (B) *Mouse monoclonal anti* IFN- γ mampu bereaksi dengan molekul protein dengan BM 20,97 kDa. (C) *Mouse monoclonal anti* HLA-G mampu bereaksi dengan molekul protein dengan M=42.6062 kDa.

**Gambar 9-D/E.**

(D) *Mouse monoclonal anti MMP-9* mampu bereaksi dengan molekul protein dengan BM=94,7727 kDa.

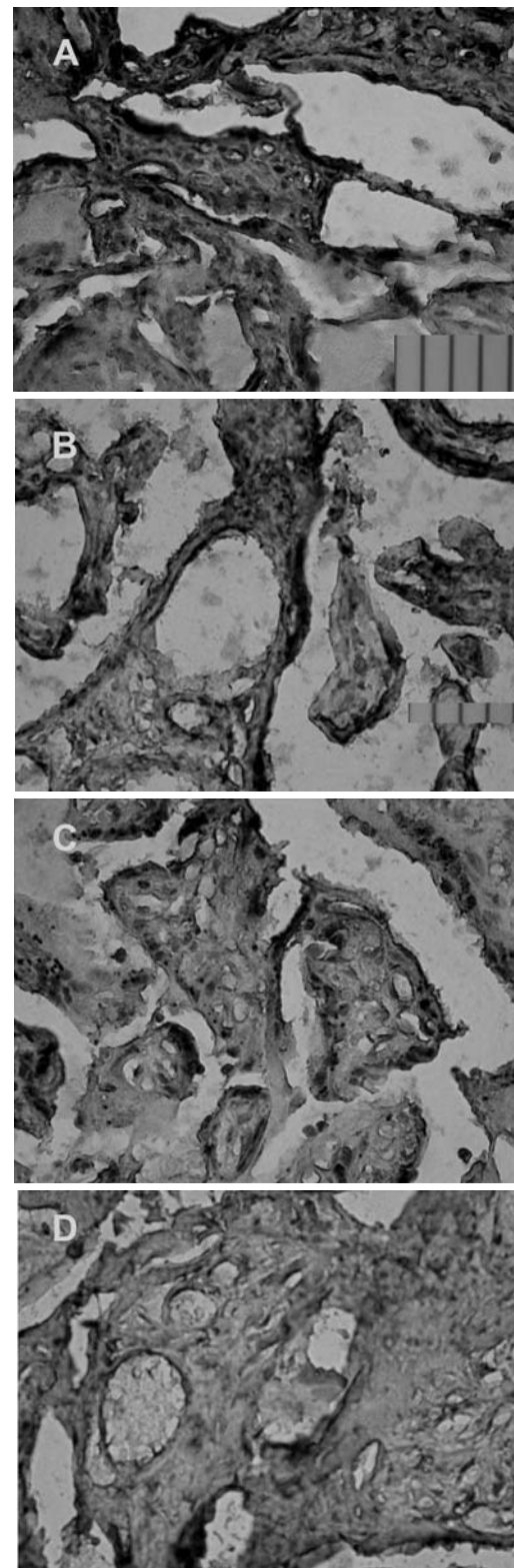
(E) *Mouse monoclonal anti VE-Cadherin* mampu bereaksi dengan molekul protein dengan BM=134,5015 kDa, pada jaringan trofoblas dan isolat sel sitotrofoblas plasenta. (N=normal, 1=preeklampsia ringan, 2=preeklampsia berat, dan 3=persalinan eklampsia. Sedangkan M=protein marker)

terhadap proses patogenesis penyakit preeklampsia (Teori Maladaptasi Imun); dihubungkan dengan patogenesis preeklampsia.

Distribusi IL-10 pada Jaringan Trofoblas Normal, Preeklampsia Ringan, Preeklampsia Berat, dan Eklampsia secara Imunohistokimia

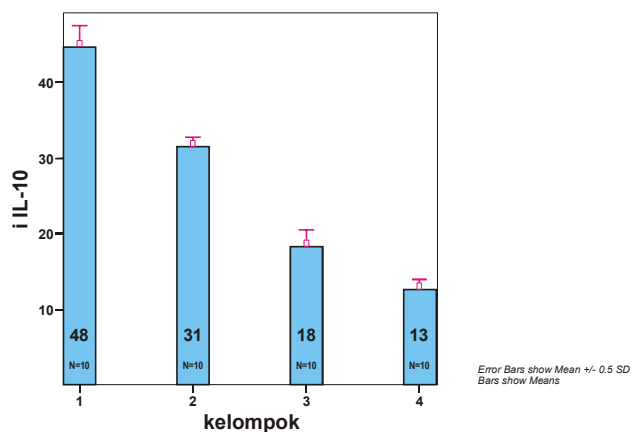
Penentuan distribusi sitokin IL-10 pada jaringan trofoblas plasenta dilakukan dengan menggunakan metode imunohistokimia dengan menggunakan antibodi primer *mouse monoclonal anti IL-10*.

Nampak bahwa distribusi sel positif IL-10 paling banyak pada jaringan trofoblas plasenta normal ($44,60 \pm 6,28$ sel/ μm^2) dibandingkan dengan preek-



Gambar 10. Gambar Jaringan Trofoblas dengan Metode Imunohistokimia. Tampak bahwa molekul IL 10 banyak terdistribusi pada permukaan *floating villi* (vili tancap): warna coklat menunjukkan distribusi molekul IL 10, dan tanda panah menunjukkan sel sitotrofoblas. (A) Plasenta Normal; (B) Plasenta Preeklampsia Ringan; (C) Plasenta Preeklampsia Berat; (D) Plasenta Eklampsia. (Pembesaran 400x, 1bar=0,01mm)

lampsia ringan ($31,40 \pm 2,99$ sel/ μm^2), preeklampsia berat ($18,30 \pm 4,40$ sel/ μm^2), demikian juga terhadap plasenta eklampsia ($12,50 \pm 2,95$ sel/ μm^2).



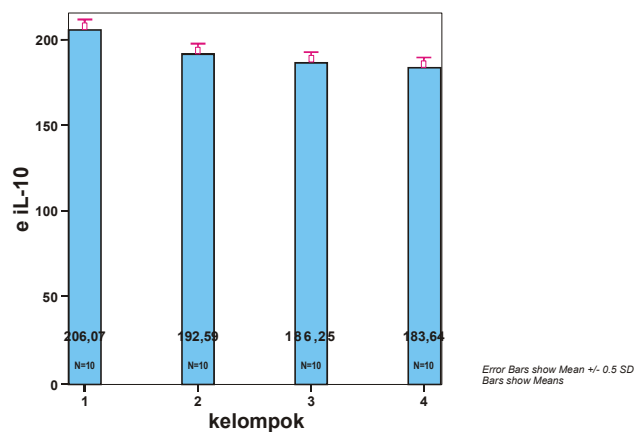
Gambar 11. Grafik Distribusi Rerata IL-10 pada Jaringan Plasenta. Kelompok (1) Plasenta Normal; Kelompok (2) Plasenta dengan Preeklampsia ringan; Kelompok (3) Plasenta dengan Preeklampsia Berat; Kelompok (4) Plasenta Eklampsia. Distribusi rerata IL-10 tertinggi ada pada kelompok plasenta normal, berangsur menurun pada kelompok plasenta pre-eklampsia ringan, preeklampsia berat, dan distribusi paling rendah dijumpai pada kelompok plasenta eklampsia.

Selanjutnya dengan menggunakan analisis varian satu arah (One way ANOVA), yang dilanjutkan uji beda tiap kelompok perlakuan (Tukey HSD), diketahui bahwa jumlah sel sitotrofoblas positif IL-10 pada jaringan trofoblas plasenta antara kelompok eklampsia dan preeklampsia berat berbeda bermakna ($p=0,000$). Antara kelompok preeklampsia ringan dengan kelompok preeklampsia berat berbeda bermakna ($p=0,000$) dan juga dengan kelompok eklampsia berbeda sangat signifikan ($p=0,000$). Dan antara kelompok plasenta normal berbeda sangat bermakna dengan kelompok plasenta preeklampsia ringan ($p=0,000$), demikian juga dengan kelompok plasenta preeklampsia berat ($p=0,000$) serta dengan kelompok plasenta eklampsia ($p=0,000$).

Konsentrasi IL-10 pada Sel Sitotrofoblas Plasenta Normal, Preeklampsia Ringan, Preeklampsia Berat, dan Eklampsia pada Isolat Sel Sitotrofoblas secara ELISA

Pengukuran konsentrasi molekul IL-10 intrasel sitotrofoblas dikerjakan dengan metode ELISA, terhadap sampel isolat sitotrofoblas dari plasenta normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia. Hasil rerata konsentrasi IL-10 pada isolat sitotrofoblas plasenta normal = $206,07 \pm 3,55$ pg/ml, preeklampsia ringan = $192,59 \pm 6,07$ pg/ml, preeklampsia berat = $186,25 \pm 9,05$ pg/ml, dan eklampsia = $183,64 \pm 3,34$ pg/ml. Perbandingan hasil rerata konsentrasi IL-10 pada isolat sitotrofoblas

sampel biopsi trofoblas kelompok normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia digambarkan dalam bentuk bar diagram di bawah ini.



Gambar 12. Grafik Konsentrasi Rerata IL-10 pada Isolat Sel Sitotrofoblas pada tiap Kelompok. Kelompok (1) Plasenta Normal; Kelompok (2) Plasenta Preeklampsia Ringan; Kelompok (3) Plasenta dengan Preeklampsia Berat; Kelompok (4) Plasenta Eklampsia. Kadar tertinggi ada pada kelompok plasenta normal, berangsur menurun pada kelompok plasenta preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan kadar paling rendah dijumpai pada kelompok plasenta eklampsia.

Hasil analisis menggunakan analisa varian satu arah (oneway ANOVA) dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) dan dilanjutkan dengan uji beda tiap kelompok (Tukey HSD) menunjukkan bahwa konsentrasi rerata IL-10 pada sitotrofoblas kelompok eklampsia dan preeklampsia berat tidak berbeda nyata ($p=0,763$), konsentrasi rerata IL-10 sitotrofoblas kelompok preeklampsia berat dan kelompok preeklampsia ringan tidak berbeda nyata ($p=0,100$), namun konsentrasi rerata IL-10 sitotrofoblas pada kelompok preeklampsia (eklampsia, preeklampsia berat, dan preeklampsia ringan) berbeda nyata ($p=0,000$) bila dibandingkan dengan kelompok normal.

Uji Spesifisitas IL-10

Secara kualitatif keberadaan protein IL-10 pada homogenat jaringan trofoblas dan isolat sitotrofoblas dapat diamati pada uji elektroforesis dan immunoblotting. Secara kualitatif uji spesifisitas dilakukan berdasarkan metode dot blot menggunakan dot blotter (BioRad), Hasil immunoblotting pada gambar tersebut menunjukkan bahwa mouse monoclonal anti IL-10 mengenali protein hasil isolasi dari jaringan trofoblas dan sel sitotrofoblas. Secara simultan dilakukan uji spesifisitas ini pada sampel isolat sel sitotrofoblas normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia. Nampak penipisan noda blotting berurutan dari sampel jaringan trofoblas dan isolat sel sitotrofoblas kelompok nor-

mal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan paling rendah pada kelompok eklampsia.

Protein IL-10 yang telah diisolasi dari homogenat trofoblas dan isolat sel sitotrofoblas diuji pula secara elektroforesis dengan *SDS-Page*, menunjukkan konsentrasi IL-10 berangsur menurun mulai dari trofoblas normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan terendah pada eklampsia.

Nampak beberapa pita protein pada *lane* N,1,2,3 (N=normal, 1=preeklampsia ringan, 2=preeklampsia berat, 3=eklampsia) dengan BM=20,97 kDa dan BM=35,39 kDa mempunyai ketebalan warna yang berbeda yakni makin ke kanan makin menipis. Hal ini menunjukkan konsentrasi IL-10 berangsur menurun mulai dari trofoblas normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan terendah pada eklampsia.

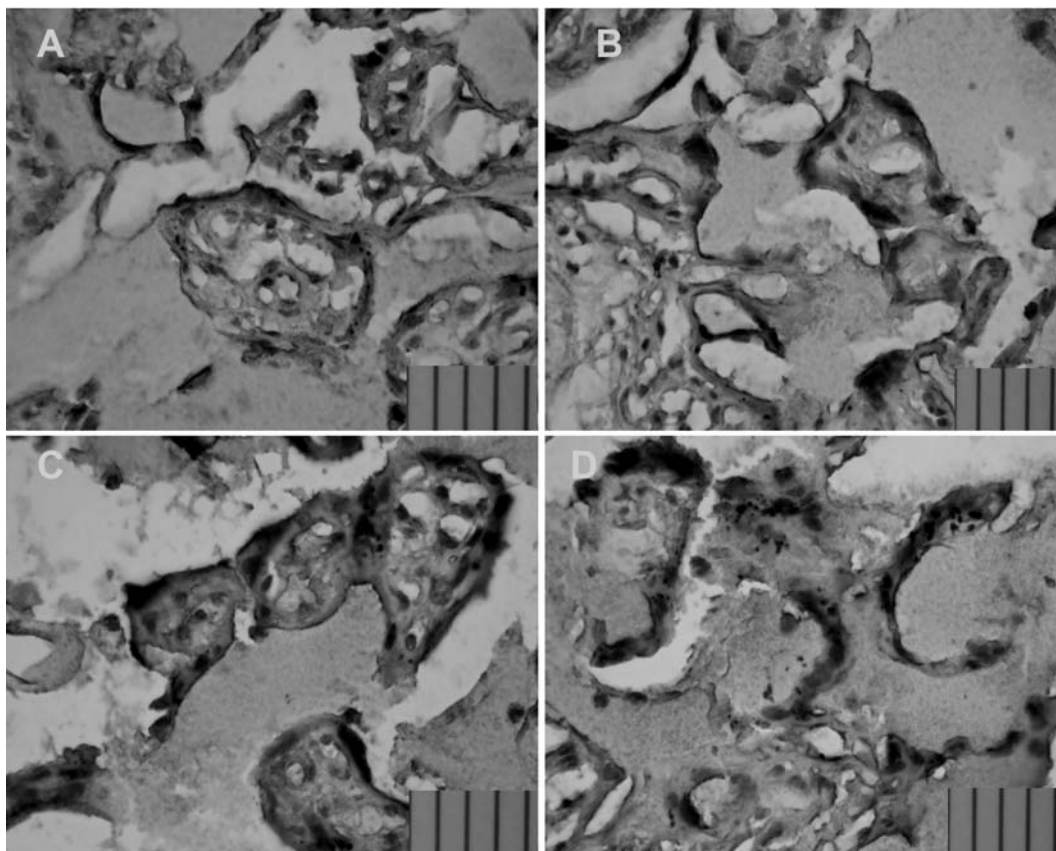
Analisis menggunakan metode *western blotting*; menunjukkan bahwa mAb IL-10 mampu bereaksi dengan molekul protein dengan BM=20,97 kDa dan BM=35,39 kDa pada sampel protein hasil ekstraksi dari homogenat jaringan trofoblas dan sel sitotrofoblas plasenta normal, preeklampsia ringan, preek-

lampsia berat, dan eklampsia. Nampak penipisan pita *blotting* berurutan dari sampel kelompok normal (N), preeklampsia ringan (1), preeklampsia berat (2), dan paling rendah pada kelompok eklampsia (3).

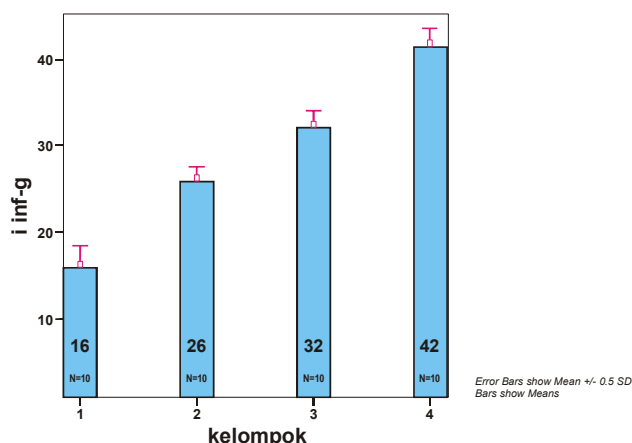
Distribusi IFN- γ pada Jaringan Trofoblas Plasenta Normal, Preeklampsia Ringan, Preeklampsia Berat, dan Eklampsia secara Imunohistokimia

Penentuan distribusi sitokin TH1, yaitu IFN- γ dilakukan dengan menggunakan metode imunohistokimia. Preparat jaringan trofoblas dipulas dengan metode imunohistokimia menggunakan *mouse monoklonal anti IFN- γ* (Bender Med System).

Dari penghitungan jumlah sel trofoblas positif IFN- γ (berwarna merah) pada jaringan trofoblas banyak terdapat pada kelompok plasenta eklampsia ($41,60 \pm 4,38$ sel/ μm^2), kemudian menurun pada plasenta preeklampsia berat ($32,10 \pm 3,63$ sel/ μm^2). Pada plasenta preeklampsia ringan jumlah sel trofoblas positif IFN- γ lebih rendah dari pada plasenta preeklampsia berat ($25,90 \pm 3,87$ sel/ μm^2), sedangkan pada plasenta normal jumlah sel trofoblas positif IFN- γ paling rendah ($15,80 \pm 4,94$ sel/ μm^2).



Gambar 13. Distribusi IFN- γ dengan menggunakan Metode Imunohistokimia. Panel A. kelompok plasenta normal; Panel B. kelompok plasenta preeklampsia ringan; Panel C. kelompok plasenta preeklampsia berat; Panel D. kelompok eklampsia. IFN- γ tampak berwarna merah, dengan menggunakan substrat AEC, tampak bahwa pada plasenta eklampsia (D) IFN- γ terdistribusi lebih banyak dari pada pada kelompok plasenta preeklampsia berat dan ringan, demikian juga diban-dingkan dengan plasenta normal.(1 bar=0,01mm)



Gambar 14. Grafik Distribusi Rerata IFN- γ pada Jaringan Trofoblas secara Immunohistokimia. Kelompok (1) Plasenta Normal; Kelompok (2) Plasenta Preeklampsia ringan; Kelompok (3) Plasenta Preeklampsia Berat; Kelompok (4) Plasenta Eklampsia. Tampak bahwa jumlah sel trofoblas yang positif IFN- γ pada kelompok plasenta normal lebih rendah dari pada kelompok plasenta preeklampsia ringan dan kelompok plasenta preeklampsia berat. Jumlah tertinggi tampak pada kelompok plasenta eklampsia.

Analisis varian satu arah (*oneway ANOVA*), dengan menggunakan tingkat kepercayaan 95%, $\alpha=0,05$, memberikan gambaran bahwa secara umum antar kelompok, terdapat perbedaan yang signifikan ($p=0,000$). Kemudian dengan menggunakan uji homogenus subset Tukey HSD, untuk mencari perbedaan pada masing-masing kelompok, terlihat bahwa antara kelompok plasenta normal, dengan kelompok plasenta preeklampsia ringan berbeda, dengan kelompok plasenta preeklampsia berat, demikian juga dengan kelompok eklampsia, berbeda sangat bermakna ($p=0,000$).

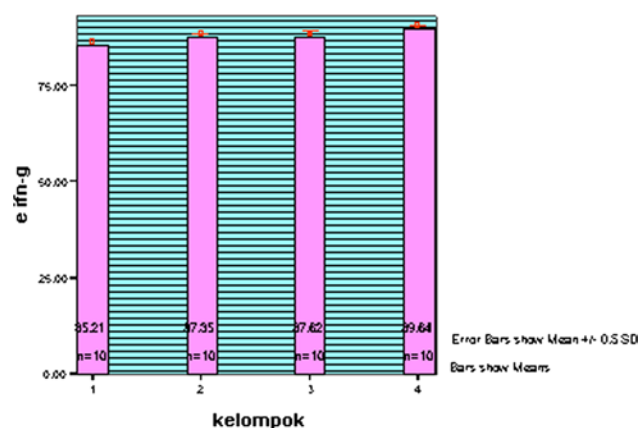
Konsentrasi IFN- γ pada Sel Sitotrofoblas Plasenta Normal, Preeklampsia Ringan, Preeklampsia Berat, dan Eklampsia Pada Isolat Sel Secara ELISA

Pengukuran konsentrasi IFN- γ intrasel sitotrofoblas dikerjakan dengan metode ELISA terhadap isolat sitotrofoblas dari sampel biopsi plasenta normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia.

Hasil rerata konsentrasi IFN- γ pada isolat sitotrofoblas plasenta normal = $85,21 \pm 0,80$ pg/ml, preeklampsia ringan = $87,35 \pm 2,27$ pg/ml, preeklampsia berat = $87,62 \pm 2,66$ pg/ml, dan eklampsia = $89,64 \pm 1,94$ pg/ml. Nampak penurunan konsentrasi IFN- γ pada sel sitotrofoblas sampel trofoblas berturut-turut dari normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan paling rendah pada eklampsia.

Hasil analisis menggunakan analisa varian satu arah (*oneway ANOVA*) dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) dan uji beda tiap kelompok perla-

kuan (Tukey HSD) menunjukkan bahwa perbandingan konsentrasi rerata IFN- γ pada sitotrofoblas kelompok normal, preeklampsia ringan dan preeklampsia berat tidak berbeda nyata ($p=0,056$), tetapi perbandingan konsentrasi rerata IFN- γ sitotrofoblas kelompok preeklampsia berat dan kelompok preeklampsia ringan, terhadap kelompok eklampsia berbeda nyata ($p=0,076$), namun konsentrasi rerata IFN- γ sitotrofoblas pada kelompok preeklampsia (eklampsia, preeklampsia berat, dan preeklampsia ringan) berbeda nyata ($p=0,000$) bila dibandingkan dengan kelompok normal.



Gambar 15. Grafik Konsentrasi Rerata IFN- γ pada Isolat Sel Sitotrofoblas Masing Kelompok Secara ELISA (pg/ml). Kelompok (1) Plasenta Normal; Kelompok (2) Plasenta Preeklampsia Ringan; Kelompok (3) Plasenta Preeklampsia Berat; Kelompok (4) Plasenta Eklampsia. Tampak bahwa konsentrasi IFN- γ pada kelompok plasenta normal lebih rendah dari pada kelompok plasenta preeklampsia ringan dan kelompok plasenta preeklampsia berat. Jumlah tertinggi tampak pada kelompok plasenta eklampsia.

Uji Spesifisitas IFN- γ

Secara kualitatif dan semikuantitatif keberadaan protein IFN- γ pada homogenat jaringan trofoblas dan isolat sitotrofoblas dapat diamati pada uji elektroforesis dan *immunoblotting*. Secara kualitatif uji spesifisitas dilakukan berdasarkan metode *dot blot* menggunakan *dot blotter* (BioRad). Hasil *immunoblotting* pada gambar tersebut menunjukkan bahwa *mouse monoclonal anti IFN- γ* mengenali protein hasil isolasi dari jaringan trofoblas dan sel sitotrofoblas. Secara simultan dilakukan uji spesifisitas ini pada sampel jaringan trofoblas dan isolat sel sitotrofoblas normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia. Nampak penebalan noda *blotting* berurutan dari sampel jaringan trofoblas dan isolat sel sitotrofoblas kelompok normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan paling tebal pada kelompok eklampsia.

Protein IFN- γ yang telah diisolasi dari homogenat trofoblas dan isolat sel sitotrofoblas diuji pula secara elektroforesis dengan *SDS-Page*. Nampak pita protein pada *lane* N,1,2,3 (N=normal, 1=preeklampsia ringan, 2=preeklampsia berat, 3=eklampsia) dengan berat molekul=20,97 kDa mempunyai ketebalan warna yang berbeda yakni makin ke kanan makin menebal. Hal ini menunjukkan konsentrasi IFN- γ berangsur meningkat mulai dari trofoblas normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan tertinggi pada eklampsia.

Analisis menggunakan metode *western blotting*; menunjukkan bahwa mAb IFN- γ mampu bereaksi dengan molekul protein dengan BM=20,97 kDa pada sampel protein hasil ekstraksi dari homogenat jaringan trofoblas dan isolat sel sitotrofoblas plasenta normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia. Secara simultan dilakukan uji spesifisitas ini pada sampel trofoblas normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia. Nampak penebalan pita *blotting* berurutan dari sampel kelompok normal (N), preeklampsia ringan (1), preeklampsia berat (2), dan paling tinggi pada kelompok eklampsia (3).

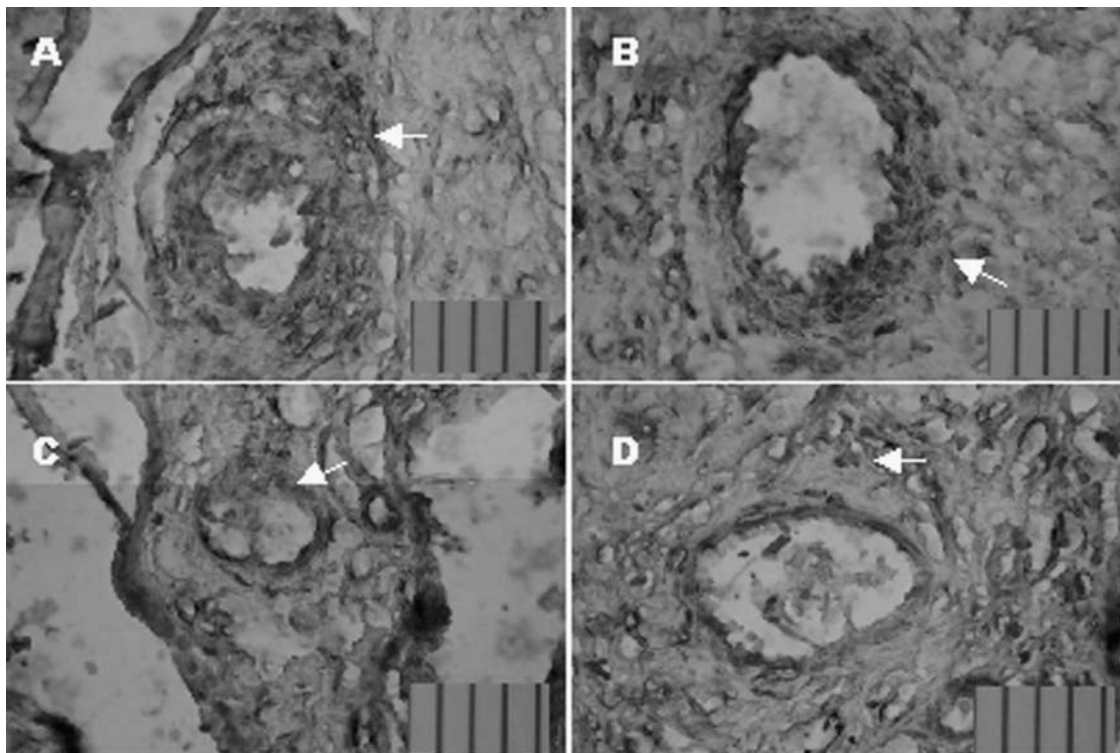
Tahap III: Hubungan Proses Diferensiasi, Invasi, dan Pseudovaskulogenesis Sel Sitotrofoblas dengan Patogenesis Preeklampsia

Penelitian tahap III secara khusus bermaksud untuk menganalisis; hubungan antara kegagalan proses diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis sitotrofoblas selama periode plasentasi (Teori Iskemik Plasenta) dengan patogenesis preeklampsia.

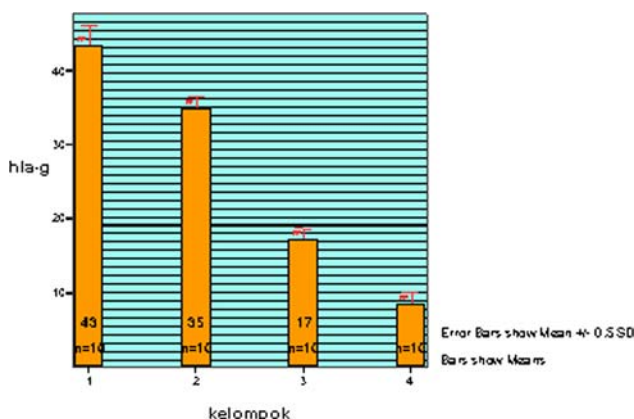
Distribusi HLA-G pada Jaringan Trofoblas Plasenta Normal, Preeklampsia Ringan, Preeklampsia Berat, dan Eklampsia

Penentuan distribusi HLA-G pada jaringan trofoblas plasenta dilakukan dengan menggunakan metode imunohistokimia dengan menggunakan antibodi primer *mouse monoclonal antibody* HLA-G (Santa Cruz Inc), yang divisualisasi menggunakan pewarnaan AEC (amino etil carbazole) berwarna merah kecoklatan.

Distribusi HLA-G tampak paling banyak pada plasenta normal ($43,40 \pm 5,46/\mu\text{m}^2$), dibandingkan dengan preeklampsia ringan ($34,90 \pm 3,31/\mu\text{m}^2$), maupun preeklampsia berat ($17,20 \pm 3,05/\mu\text{m}^2$), demikian juga terhadap plasenta eklampsia ($8,70 \pm 2,87/\mu\text{m}^2$).



Gambar 16. Distribusi HLA-G dengan Metode Imunohistokimia. (A) kelompok plasenta normal; (B) kelompok plasenta preeklampsia ringan; (C) kelompok plasenta preeklampsia berat; (D) kelompok eklampsia. HLA-G tampak berwarna merah kecoklatan pada sitoplasma sel sitotrofoblas, dengan menggunakan substrat AEC. Tampak bahwa pada plasenta normal HLA-G terdistribusi lebih banyak dari pada kelompok plasenta preeklampsia ringan dan berat, demikian juga dibandingkan dengan plasenta eklampsia. Pembesaran (400x, 1 bar= 0,01mm).



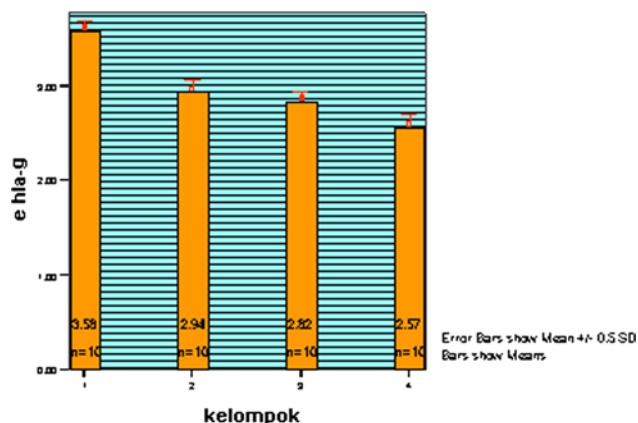
Gambar 17. Tabel Distribusi Rerata HLA-G pada Jaringan Trofoblas. Kelompok (1) Plasenta Normal; Kelompok (2) Plasenta dengan Preeklampsia ringan; Kelompok (3) Plasenta dengan Preeklampsia Berat; Kelompok (4) Plasenta Eklampsia. Nampak distribusi rerata HLA-G pada kelompok plasenta normal lebih tinggi dari pada kelompok plasenta preeklampsia ringan dan kelompok plasenta preeklampsia berat. Jumlah terendah tampak pada kelompok plasenta eklampsia.

Analisis varian satu arah (*oneway ANOVA*), dengan menggunakan tingkat kepercayaan 95%, $\alpha=0,05$; memberikan gambaran bahwa secara umum antar kelompok plasenta normal, preeklampsia ringan dan berat serta plasenta eklampsia, terdapat perbedaan yang signifikan ($p=0,000$). Kemudian dengan menggunakan uji *post hoc test*, untuk mencari perbedaan pada masing-masing kelompok, terlihat bahwa antara kelompok plasenta normal dengan kelompok plasenta preeklampsia ringan terdapat perbedaan yang signifikan ($p=0,015$) demikian juga dengan kelompok eklampsia ($p=0,000$) plasenta preeklampsia berat ($p=0,000$), menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan, juga terlihat dengan kelompok eklampsia, terdapat perbedaan yang sangat signifikan terhadap kelompok plasenta normal ($p=0,000$). Antara kelompok plasenta preeklampsia ringan dengan preeklampsia berat dan juga dengan kelompok plasenta eklampsia terdapat perbedaan yang sangat signifikan ($p=0,000$), serta antara plasenta preeklampsia berat dan plasenta eklampsia terdapat perbedaan yang signifikan ($p=0,00$).

Konsentrasi HLA-G pada Sel Sitotrofoblas Plasenta Normal, Preeklampsia Ringan, Preeklampsia Berat, dan Eklampsia

Pengukuran konsentrasi HLA-G intrasel sitotrofoblas dikerjakan dengan metode ELISA terhadap isolat sitotrofoblas dari sampel biopsi plasenta normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia. Hasil konsentrasi rerata HLA-G pada isolat sitotrofoblas plasenta normal= $3,58\pm 0,25$ pg/ml, preeklampsia ringan= $2,94\pm 0,25$ pg/ml, preeklampsia be-

rat= $2,82\pm 0,24$ pg/ml, dan eklampsia= $2,57\pm 0,29$ pg/ml. Nampak penurunan konsentrasi rerata HLA-G pada sel sitotrofoblas sampel trofoblas berturut-turut dari normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan paling rendah pada eklampsia.



Gambar 18. Tabel Konsentrasi Rerata HLA-G pada Isolat Sel Sitotrofoblas. Kelompok (1) Plasenta Normal; Kelompok (2) Plasenta dengan Preeklampsia Ringan; Kelompok (3) Plasenta dengan Preeklampsia Berat; Kelompok (4) Plasenta Eklampsia. Nampak distribusi rerata HLA-G pada kelompok plasenta normal lebih tinggi dari pada kelompok plasenta preeklampsia ringan dan kelompok plasenta preeklampsia berat. Jumlah terendah tampak pada kelompok plasenta eklampsia.

Hasil analisis menggunakan analisa varian satu arah (*oneway ANOVA*) dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) dan uji beda tiap kelompok perlakuan (*Tukey HSD*) menunjukkan bahwa perbandingan konsentrasi rerata HLA-G pada sitotrofoblas kelompok preeklampsia ringan dan preeklampsia berat tidak berbeda nyata ($p=0,741$), perbandingan konsentrasi rerata HLA-G sitotrofoblas kelompok preeklampsia berat dan kelompok preeklampsia ringan, terhadap kelompok eklampsia tidak berbeda nyata ($p=0,136$), namun demikian konsentrasi rerata HLA-G sitotrofoblas pada kelompok preeklampsia (eklampsia, preeklampsia berat, dan preeklampsia ringan) berbeda nyata ($p=0,000$) bila dibandingkan dengan kelompok normal.

Uji Spesifisitas HLA-G

Secara kualitatif keberadaan protein HLA-G pada homogenat jaringan trofoblas dan isolat sitotrofoblas dapat diamati pada uji elektroforesis dan *immunoblotting*. Secara kualitatif uji spesifisitas dilakukan berdasarkan metode *dot blot* menggunakan *dot blotter* (BioRad), dan dihasilkan data berupa gambar visualisasi terjadinya reaksi spesifik antara antigen HLA-G dengan *mouse monoclonal anti HLA-G* yang terlihat sebagai noda biru keunguan.

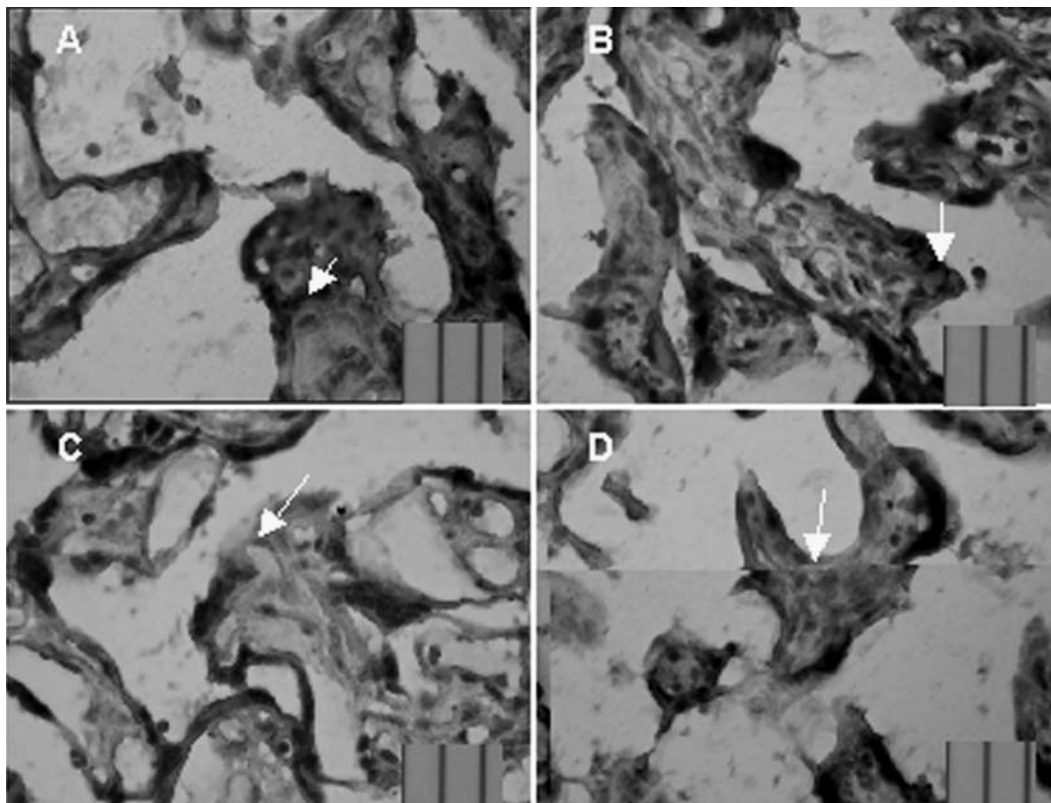
Hasil *immunoblotting* pada gambar tersebut menunjukkan bahwa *mouse monoclonal anti HLA-G* mengenali protein hasil isolasi dari jaringan trofoblas dan sel sitotrofoblas. Semakin tinggi konsentrasi HLA-G yang bereaksi semakin gelap warna yang dihasilkan. Secara simultan dilakukan uji spesifisitas ini pada sampel isolat sel sitotrofoblas normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia. Nampak penipisan noda *blotting* berurutan dari sampel jaringan trofoblas dan isolat sel sitotrofoblas kelompok normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan paling rendah pada kelompok eklampsia.

Protein HLA-G yang telah diisolasi dari homogenat trofoblas dan isolat sel sitotrofoblas diuji pula secara elektroforesis dengan *SDS-Page*. Nampak beberapa pita protein pada *lane N,1,2,3* (N=normal, 1=preeklampsia ringan, 2=preeklampsia berat, 3=eklampsia) dengan berat molekul =35,39 kDa mempunyai ketebalan warna yang berbeda yakni makin ke kanan makin menipis. Hal ini menunjukkan konsentrasi HLA-G berangsur menurun mulai dari trofoblas normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan terendah pada eklampsia.

Analisis menggunakan metode *western blotting*; menunjukkan bahwa mAb HLA-G mampu bereaksi dengan molekul protein dengan BM=42,60 kDa pada sampel protein hasil ekstraksi dari homogenat jaringan trofoblas dan sel sitotrofoblas plasenta normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia. Nampak penipisan pita *blotting* berurutan dari sampel kelompok normal (N), preeklampsia ringan (1), preeklampsia berat (2), dan paling rendah pada kelompok eklampsia (3).

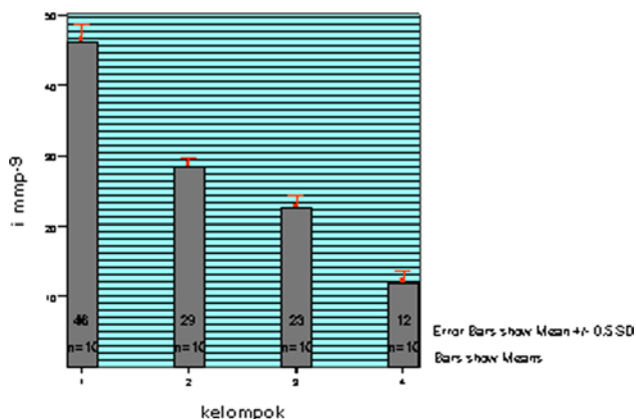
Distribusi MMP-9 pada Jaringan Trofoblas Plasenta Normal, Preeklampsia Ringan, Preeklampsia Berat, dan Eklampsia

Penentuan distribusi MMP-9 pada jaringan trofoblas plasenta dilakukan dengan menggunakan metode imunohistokimia dengan menggunakan antibodi primer *mouse monoclonal anti MMP-9* (SantaCruz Inc) yang ditandai dengan warna merah kecoklatan pada sel sitotrofoblas yang mengekspresikan molekul MMP-9, karena terjadinya reaksi antigen-antibodi antara molekul MMP-9 dengan *mouse monoclonal anti MMP-9* yang divisualisasi menggunakan pewarnaan AEC (amino etil carbazole).



Gambar 19. Distribusi MMP-9 dengan Metode Imunohistokimia. (A) kelompok plasenta normal; (B) kelompok plasenta preeklampsia ringan; (C) kelompok plasenta preeklampsia berat; (D) kelompok eklampsia. MMP-9 tampak berwarna merah kecoklatan, dengan menggunakan substrat AEC, tampak bahwa pada plasenta normal MMP-9 terdistribusi lebih banyak dari pada kelompok plasenta preeklampsia ringan dan berat, demikian juga dibandingkan dengan plasenta eklampsia. (1 bar=0,01mm)

Nampak bahwa distribusi rerata MMP-9 pada jaringan trofoblas tampak paling banyak pada plasenta normal ($46,30 \pm 5,08/\mu\text{m}^2$), baik dibandingkan dengan preeklampsia ringan ($28,60 \pm 2,37/\mu\text{m}^2$), maupun preeklampsia berat ($22,50 \pm 3,87/\mu\text{m}^2$), demikian juga terhadap plasenta eklampsia ($12,10 \pm 2,92/\mu\text{m}^2$).

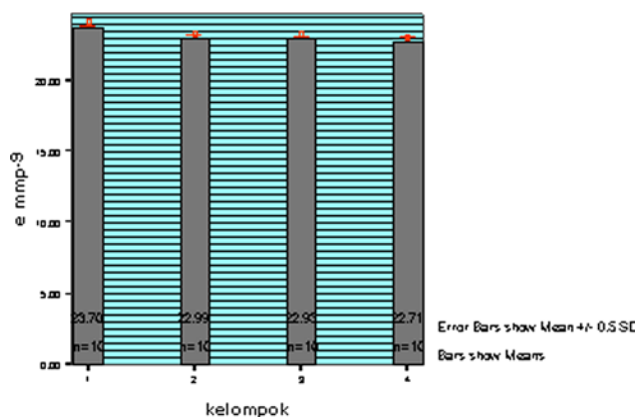


Gambar 20. Grafik Distribusi Rerata MMP-9 pada Jaringan Trofoblas. Kelompok 1=Plasenta Normal; Kelompok 2=Plasenta Preeklampsia Ringan; Kelompok 3=Plasenta Preeklampsia Berat; Kelompok 4=Plasenta Eklampsia. Tampak bahwa jumlah sel trofoblas yang mengekspresikan MMP-9 pada jaringan trofoblas kelompok plasenta normal lebih tinggi dari pada kelompok plasenta preeklampsia ringan dan kelompok plasenta preeklampsia berat. Jumlah terendah tampak pada kelompok plasenta eklampsia.

Analisis varian satu arah (*oneway ANOVA*), dengan menggunakan tingkat kepercayaan 95%, $\alpha=0,05$, memberikan gambaran bahwa secara umum antar kelompok plasenta normal, preeklampsia ringan dan berat serta plasenta eklampsia, terdapat perbedaan yang signifikan ($p=0,000$). Kemudian dengan menggunakan uji *post hoc test*, untuk mencari perbedaan pada masing-masing kelompok, terlihat bahwa antara kelompok plasenta normal dengan kelompok plasenta preeklampsia ringan terdapat perbedaan yang signifikan ($p=0,000$) demikian juga dengan kelompok eklampsia ($p=0,000$) plasenta preeklampsia berat ($p=0,000$), menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan, juga terlihat dengan kelompok eklampsia, terdapat perbedaan yang sangat signifikan terhadap kelompok plasenta normal ($p=0,000$). Antara kelompok plasenta preeklampsia ringan dengan preeklampsia berat juga terdapat perbedaan yang signifikan ($p=0,000$), dan dengan kelompok plasenta eklampsia terdapat perbedaan yang signifikan ($p=0,000$), serta antara plasenta preeklampsia berat dan plasenta eklampsia terdapat perbedaan yang signifikan ($p=0,000$).

Konsentrasi MMP-9 pada Sel Sitotrofoblas Plasenta Normal, Preeklampsia Ringan, Preeklampsia Berat, dan Eklampsia

Pengukuran konsentrasi MMP-9 intrasel sitotrofoblas dikerjakan dengan metode ELISA terhadap isolat sitotrofoblas dari sampel biopsi plasenta normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia. Hasil rerata konsentrasi MMP-9 pada isolat sitotrofoblas plasenta normal= $23,70 \pm 0,15$ pg/ml, preeklampsia ringan= $22,99 \pm 0,43$ pg/ml, preeklampsia berat= $22,93 \pm 0,17$ pg/ml, dan eklampsia= $22,71 \pm 0,58$ pg/ml. Nampak penurunan konsentrasi MMP-9 pada sel sitotrofoblas sampel trofoblas berturut-turut dari normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan paling rendah pada eklampsia.



Gambar 21. Grafik Konsentrasi Rerata MMP-9 pada Isolat Sel Sitotrofoblas. Kelompok 1=Plasenta Normal. Kelompok 2=Plasenta Preeklampsia Ringan. Kelompok 3=Plasenta Preeklampsia Berat. Kelompok 4=Plasenta Eklampsia. Tampak bahwa konsentrasi MMP-9 intrasel trofoblas pada kelompok plasenta normal lebih tinggi dari pada kelompok plasenta preeklampsia ringan dan kelompok plasenta preeklampsia berat. Jumlah terendah tampak pada kelompok plasenta eklampsia.

Hasil analisis menggunakan analisa varian satu arah (*oneway ANOVA*) dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) dan uji beda tiap kelompok perlakuan (*Tukey HSD*) menunjukkan bahwa perbandingan konsentrasi rerata MMP-9 pada isolat sel sitotrofoblas pada kelompok preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia tidak berbeda bermakna ($p=0,373$), namun konsentrasi rerata MMP-9 sitotrofoblas pada kelompok preeklampsia (eklampsia, preeklampsia berat, dan preeklampsia ringan) berbeda bermakna ($p=0,000$) dibandingkan dengan kelompok normal.

Uji Spesifisitas MMP-9

Secara kualitatif keberadaan protein MMP-9 pada homogenat jaringan trofoblas dan isolat sitotrofoblas dapat diamati pada uji elektroforesis dan *im-*

munoblotting. Uji spesifisitas bertujuan untuk membuktikan bahwa isolat protein MMP-9 mampu bereaksi dengan *mouse monoclonal anti* MMP-9. Secara kualitatif uji spesifisitas dilakukan berdasarkan metode *dot blot* menggunakan *dot blotter* (BioRad), dan dihasilkan data berupa gambar visualisasi terjadinya reaksi spesifik antara antigen MMP-9 dengan *mouse monoclonal anti* MMP-9 yang terlihat sebagai noda biru keunguan.

Secara simultan dilakukan uji spesifisitas ini pada sampel isolat sel sitotrofoblas normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia. Nampak penipisan noda *blotting* berurutan dari sampel jaringan trofoblas dan isolat sel sitotrofoblas kelompok normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan paling rendah pada kelompok eklampsia.

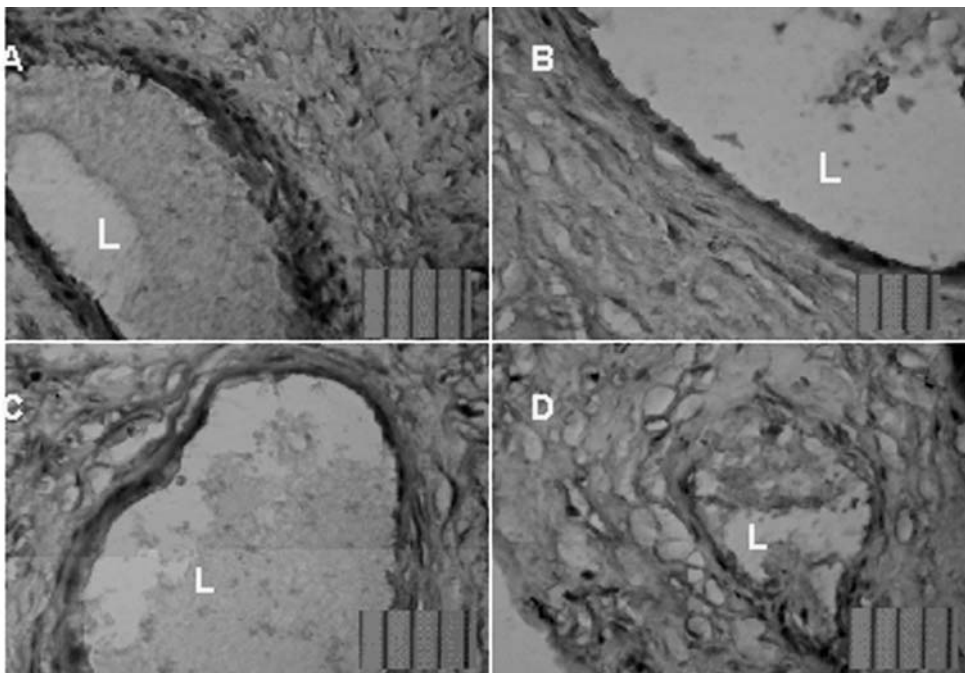
Protein MMP-9 yang telah diisolasi dari homogenat trofoblas dan isolat sel sitotrofoblas diuji pula secara elektroforesis dengan *SDS-Page*. Nampak beberapa pita protein pada *lane* N,1,2,3 (N=normal, 1=preeklampsia ringan, 2=preeklampsia berat, 3=eklampsia) dengan BM=94,77 kDa mempunyai ketebalan warna yang berbeda yakni makin ke kanan makin menipis. Hal ini menunjukkan konsentrasi MMP-9 berangsur menurun mulai dari trofoblas normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan terendah pada eklampsia.

Analisis menggunakan metode *western blotting*; menunjukkan bahwa mAb MMP-9 mampu bereaksi dengan molekul protein dengan BM=94,77 kDa pada sampel protein hasil ekstraksi dari homogenat jaringan trofoblas dan sel sitotrofoblas plasenta normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia. Nampak penipisan pita *blotting* berurutan dari sampel kelompok normal (N), preeklampsia ringan (1), preeklampsia berat (2), dan paling rendah pada kelompok eklampsia (3).

Distribusi VE-Cadherin pada Jaringan Trofoblas Plasenta Normal, Preeklampsia Ringan, Preeklampsia Berat, dan Eklampsia

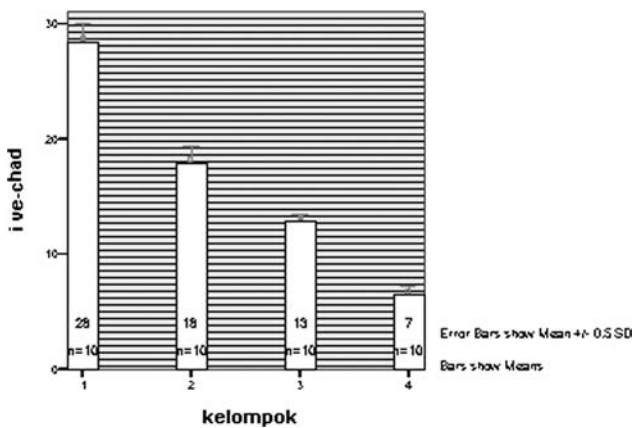
Penentuan distribusi VE-Cadherin pada jaringan trofoblas plasenta dilakukan dengan menggunakan metode imunohistokimia dengan menggunakan antibodi primer *mouse monoclonal anti* VE-Cadherin (SantaCruz Inc), yang ditandai dengan warna merah kecoklatan pada sel sitotrofoblas yang mengekspresikan molekul VE-Cadherin, karena terjadinya reaksi antigen-antibodi antara molekul VE-Cadherin dengan *mouse monoclonal anti* VE-Cadherin yang divisualisasi menggunakan pewarnaan Amino Ethil Carbazole-tetrahydrochloride (AEC-H₂O₂).

Bahwa distribusi VE-Cadherin tampak lebih banyak, baik pada plasenta normal ($28,40 \pm 3,31 \text{ sel}/\mu\text{m}^2$), dibandingkan dengan preeklampsia ringan ($17,90 \pm 3,11$



Gambar 22. Distribusi VE-Cadherin dengan Metode Imunohistokimia. (A) kelompok plasenta normal; (B) kelompok plasenta preeklampsia ringan; (C) kelompok plasenta preeklampsia berat; (D) kelompok eklampsia. VE-Cadherin tampak berwarna merah kecoklatan, dengan menggunakan substrat AEC, tampak bahwa pada plasenta normal (A) VE-Cadherin terdistribusi lebih banyak dari pada pada kelompok plasenta preeklampsia ringan (B) dan berat (C), demikian juga dibandingkan dengan plasenta eklampsia (D).

sel/ μm^2), maupun preeklampsia berat ($12,80 \pm 1,40$ sel/ μm^2), demikian juga terhadap plasenta eklampsia ($6,50 \pm 1,72$ sel/ μm^2).



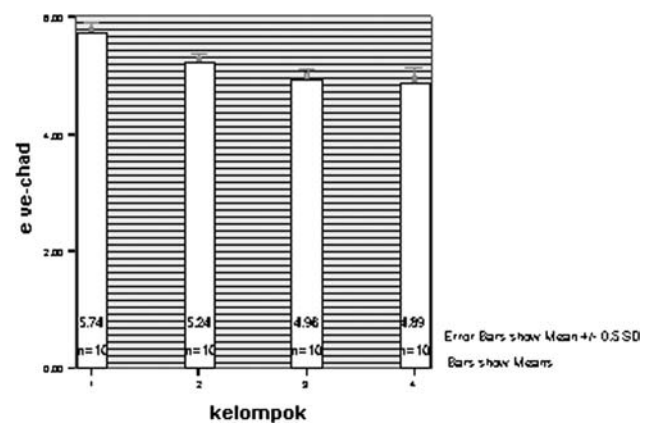
Gambar 23. Grafik Distribusi Rerata VE-Cadherin pada Jaringan Trofoblas. Kelompok 1=Plasenta Normal. Kelompok 2=Plasenta Preeklampsia Ringan. Kelompok 3=Plasenta Preeklampsia Berat. Kelompok 4=Plasenta Eklampsia. Tampak bahwa jumlah sel yang positif VE-Cadherin per μm^2 jaringan trofoblas pada kelompok plasenta normal lebih tinggi dari pada kelompok plasenta preeklampsia ringan dan kelompok plasenta preeklampsia berat. Jumlah terendah tampak pada kelompok plasenta eklampsia.

Analisis varian satu arah (*One way ANOVA*), dengan menggunakan tingkat kepercayaan 95%, $\alpha=0,05$, memberikan gambaran bahwa secara umum antar kelompok plasenta normal, preeklampsia ringan dan berat serta plasenta eklampsia, terdapat perbedaan yang signifikan ($p=0,000$). Kemudian dengan menggunakan uji Tukey HSD test, untuk mencari perbedaan pada masing-masing kelompok. Terlihat bahwa antara kelompok plasenta normal dengan kelompok plasenta preeklampsia ringan terdapat perbedaan yang signifikan ($p=0,000$) demikian juga dengan kelompok eklampsia ($p=0,000$) plasenta preeklampsia berat ($p=0,000$), menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan, juga terlihat dengan kelompok eklampsia, terdapat perbedaan yang sangat signifikan terhadap kelompok plasenta normal ($p=0,000$). Antara kelompok plasenta preeklampsia ringan dengan preeklampsia berat terdapat perbedaan yang signifikan ($p=0,000$), dengan kelompok plasenta eklampsia terdapat perbedaan yang signifikan ($p=0,000$), serta antara plasenta preeklampsia berat dan plasenta eklampsia terdapat perbedaan yang signifikan ($p=0,000$).

Konsentrasi VE-Cadherin pada Sel Sitotrofoblas Plasenta Normal, Preeklampsia Ringan, Preeklampsia Berat, dan Eklampsia

Pengukuran konsentrasi VE-Cadherin intrasel sitotrofoblas dikerjakan dengan metode ELISA terhadap isolat sitotrofoblas dari sampel biopsi pla-

senta normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia. Hasil rerata konsentrasi VE-Cadherin pada isolat sitotrofoblas plasenta normal = $5,74 \pm 0,38$ pg/ml, preeklampsia ringan = $5,24 \pm 0,34$ pg/ml, preeklampsia berat = $4,96 \pm 0,32$ pg/ml, dan eklampsia = $4,89 \pm 0,52$ pg/ml. Nampak penurunan konsentrasi VE-Cadherin pada isolat sel sitotrofoblas sampel trofoblas berturut-turut dari normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan paling rendah pada eklampsia.



Gambar 24. Grafik Konsentrasi Rerata VE-Cadherin Isolat Sitotrofoblas. Kelompok 1=Plasenta Normal. Kelompok 2=Plasenta Preeklampsia ringan. Kelompok 3=Plasenta Preeklampsia Berat. Kelompok 4=Plasenta Eklampsia. Tampak konsentrasi VE-Cadherin sel sitotrofoblas pada kelompok plasenta normal lebih tinggi dari pada kelompok plasenta preeklampsia ringan dan kelompok plasenta preeklampsia berat. Jumlah terendah tampak pada kelompok plasenta eklampsia.

Hasil analisis menggunakan analisa varian satu arah (*oneway ANOVA*) dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) dan uji beda tiap kelompok perlakuan (Tukey HSD) menunjukkan bahwa perbandingan konsentrasi rerata VE-Cadherin pada sitotrofoblas kelompok preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia tidak berbeda bermakna ($p=0,224$), namun demikian konsentrasi rerata VE-Cadherin sitotrofoblas pada kelompok preeklampsia (eklampsia, preeklampsia berat, dan preeklampsia ringan) berbeda nyata ($p=0,000$) bila dibandingkan dengan kelompok normal.

Uji Spesifisitas VE-Cadherin

Secara kualitatif keberadaan protein VE-Cadherin pada homogenat jaringan trofoblas dan isolat sitotrofoblas dapat diamati pada uji elektroforesis dan *immunobloting*. Uji spesifisitas bertujuan untuk membuktikan bahwa isolat protein VE-Cadherin mampu bereaksi dengan *mouse monoclonal anti VE-Cadherin*. Secara kualitatif uji spesifisitas dilakukan berdasarkan metode *dot blot* menggunakan

dot blotter (BioRad), dan dihasilkan data berupa gambar visualisasi terjadinya reaksi spesifik antara antigen VE-Cadherin dengan *mouse monoclonal anti* VE-Cadherin yang terlihat sebagai noda biru keunguan. Secara simultan dilakukan uji spesifisitas ini pada sampel isolat sel sitotrofoblas normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia. Nampak penipisan noda *blotting* berurutan dari sampel jaringan trofoblas dan isolat sel sitotrofoblas kelompok normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan paling rendah pada kelompok eklampsia.

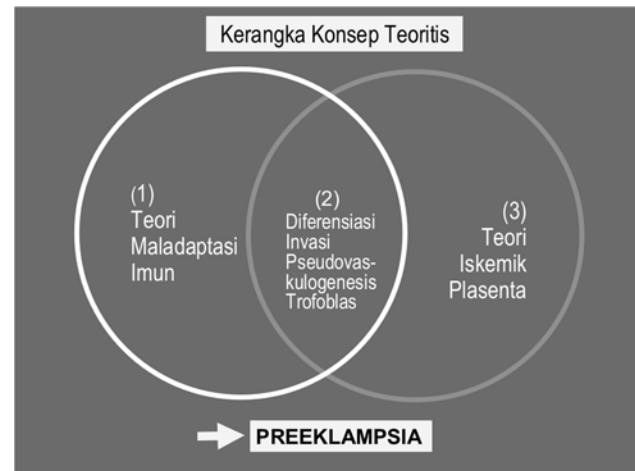
Protein VE-Cadherin yang telah diisolasi dari homogenat trofoblas dan isolat sel sitotrofoblas diuji pula secara elektroforesis dengan *SDS-Page*. Nampak pita protein pada *lane* N,1,2,3 (N=normal, 1=preeklampsia ringan, 2=preeklampsia berat, 3=eklampsia) dengan BM=134,50 kDa mempunyai ketebalan warna yang berbeda yakni makin ke kanan makin menipis. Hal ini menunjukkan konsentrasi VE-Cadherin berangsur menurun mulai dari trofoblas normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan terendah pada eklampsia.

Analisis menggunakan metode *western blotting*; menunjukkan bahwa monoklonal anti VE-Cadherin mampu bereaksi dengan molekul protein dengan BM=134,50 kDa pada sampel protein hasil ekstraksi dari homogenat jaringan trofoblas dan sel sitotrofoblas plasenta normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia. Secara simultan dilakukan uji spesifisitas ini pada sampel trofoblas normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia. Nampak penipisan pita *blotting* berurutan dari sampel kelompok normal (N), preeklampsia ringan (1), preeklampsia berat (2), dan paling rendah pada kelompok eklampsia (3).

PEMBAHASAN

Penelitian ini secara umum bermaksud untuk melakukan analisis hubungan antara 2 teori etiologi preeklampsia yaitu, Iskemik Plasenta dan Maladaptasi Imun pada patogenesis preeklampsia; secara tidak langsung dengan menganalisis hubungan antara IL-10 dan IFN- γ pada jaringan trofoblas dan isolat sitotrofoblas (sesuai Teori Maladaptasi Imun); dihubungkan dengan kegagalan proses diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis sitotrofoblas (sesuai Teori Iskemik Plasenta), pada patogenesis preeklampsia.

Mengenai Teori Maladaptasi Imun, beberapa penulis telah meletakkan berbagai data kuat yang

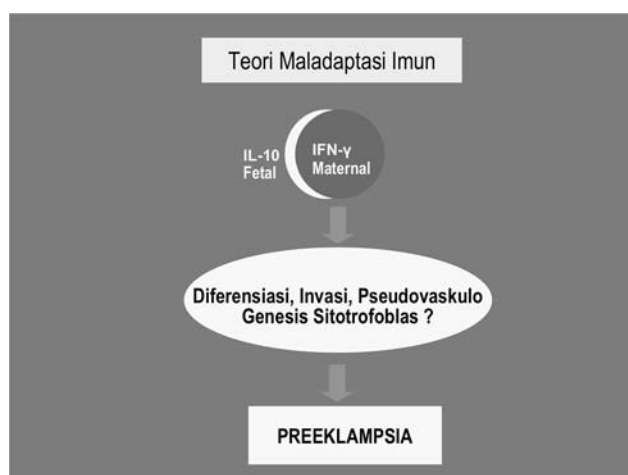


Gambar 25. Hubungan antara Teori Maladaptasi Imun, Placentasi, dan Iskemik Plasenta. Pada preeklampsia diduga terjadi suatu maladaptasi imun yang mengakibatkan terjadinya kegagalan proses diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis trofoblas, yang mengakibatkan terjadinya iskemik plasenta. Iskemik plasenta pada akhirnya akan mengakibatkan *placental oxidative stress*, melepas *radical oxygen species* ke sirkulasi sistemik maternal, menimbulkan disfungsi dan kerusakan endotel vaskuler, dan preeklampsia.

mendukung teori ini sebagai penyebab yang mungkin berhubungan dengan patogenesis preeklampsia. (a) Secara fakta klinis, preeklampsia pada umumnya merupakan penyakit yang terjadi pada kehamilan pertama. (b) Strickland, menyatakan bahwa abortus yang terdahulu akan mempunyai fungsi protektif terhadap terjadinya preeklampsia. (c) Tetapi apabila wanita berganti pasangan seksual maka imunitas yang terjadi karena multiparitas mungkin dapat hilang. (d) Eksposur berulang terhadap sperma dari individu yang sama, juga mempunyai fungsi protektif terhadap timbulnya preeklampsia, (e) sedangkan inseminasi buatan akan meningkatkan kejadian preeklampsia.¹

Menurut Teori Maladaptasi Imun, diduga terjadi suatu kegagalan pembangkitan *localized immune tolerance* pada *maternal-fetal interface*, sebagai respons terhadap masuknya antigen *semi-allograft* fetus. Hal ini diduga karena sel sitotrofoblas dalam berbagai stase plasentasi di samping gagal mengekspresikan HLA-G suatu molekul *major histocompatibility complex* kelas I-B, juga gagal secara aktif mensekresi beberapa molekul *pregnancy induced proteins*, dan sitokin IL-10. Sitokin ini gagal menghambat produksi IFN- γ maternal, dan gagal melakukan regulasi naik ekspresi berbagai molekul seperti HLA-G, MMP-9, VE-Cadherin, serta gagal melakukan *down regulation* ekspresi molekul MHC kelas I dan kelas II klasikal pada sel sitotrofoblas plasenta.⁶

Sebagai akibatnya, akan terjadi kegagalan proses plasentasi (diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis sitotrofoblas). Sel trofoblas fetal gagal menginvasi secara lengkap arteri spiralis uterus, gagal membuat koneksi baru antara arteriole spiralis dengan sistem vaskuler plasenta, dan menyebabkan arteri spiralis uterus dengan resistensi tinggi secara persisten, serta akan menimbulkan hipoksia dan iskemik plasenta. Iskemik plasenta pada preeklampsia dapat mengakibatkan disfungsi endothel maternal secara sistemik maternal, walaupun dengan mekanisme yang sebagian besar masih belum diketahui. Kemungkinan melalui peran berbagai mediator plasenta, yang meliputi produk-produk *oxidative stress* yang dilepas ke dalam sirkulasi maternal, seperti *superoxide anion radicals* (*superoxide*; O_2^-) dan *hydrogen peroxide* (H_2O_2).² Konsep patogenesis preeklampsia ini yang kemudian dikenal sebagai Teori Iskemik Plasenta menurut Wochenschr.¹



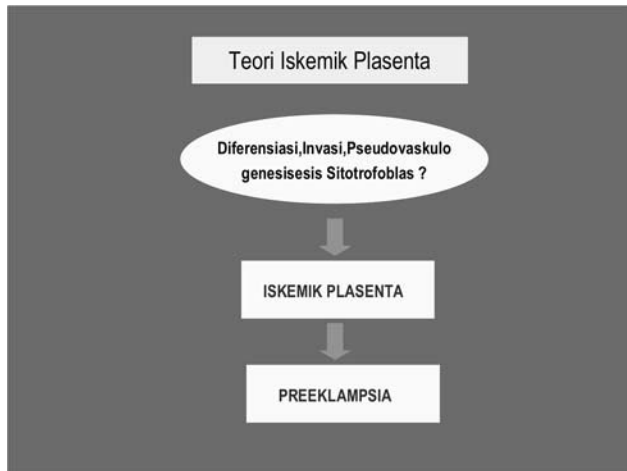
Gambar 26. Skema Teori Maladaptasi Imun. Pada preeklampsia diduga terjadi suatu kegagalan pembangkitan *localized immune tolerance* pada *maternal-fetal interface*, sebagai respon terhadap masuknya antigen *semi-allograft* fetus. Sebagai akibatnya, akan terjadi kegagalan proses plasentasi (diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis sitotrofoblas), mengakibatkan terjadinya hipoksia dan iskemik plasenta, disfungsi endothel maternal secara sistemik maternal, dan menimbulkan gejala klinis preeklampsia.

Teori Iskemik Plasenta menyatakan bahwa, plasenta telah terbukti mempunyai peran penting pada patofisiologi preeklampsia karena berbagai fakta. (A) Preeklampsia ternyata lebih sering terjadi pada kehamilan multifetal di mana terjadi peningkatan masa plasenta dibandingkan kehamilan tunggal. (B) Pada kehamilan mola, di mana terjadi peningkatan jaringan plasenta secara dramatis, seringkali terjadi suatu *preeclampsia-like syndrome* pada awal keha-

milan. (C) Pengeluaran jaringan plasenta masih merupakan terapi utama pada kehamilan dengan preeklampsia. (D) Menurut pengamatan, hampir tidak pernah ada pelaporan adanya eklampsia post partum sesudah tindakan *Caesarean hysterectomy*, di mana dilakukan pengeluaran seluruh jaringan plasenta post partum.

Menurut Teori Iskemik Plasenta, diduga bahwa iskemik plasenta yang terjadi adalah akibat dari kegagalan diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis trofoblas selama periode plasentasinya. (A) *Invading cytotrophoblasts* gagal melakukan beberapa aspek program diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis mereka. Sitotrofoblas tidak dapat menginvasi sampai mencapai pembuluh darah maternal karena gagal melakukan berbagai proses diferensiasi selnya. (B) Sitotrofoblas tidak dapat meregulasi turun *epithelial specific marker* VE-Cadherin. Sedangkan Integrin- $\alpha 1$ menurun drastis pada sitotrofoblas. (C) Sekresi MMP-9 dari sel sitotrofoblas menurun drastis. (D) Sitotrofoblas tidak dapat mengekspresikan HLA-G. (E) Sel sitotrofoblas gagal memproduksi IL-10. (F) VE-Cadherin, suatu *endothelial specific marker*, gagal diregulasi naik pada sitotrofoblas yang menginvasi kolom distal *anchoring villi* dan sitotrofoblas yang memodulasi pseudovaskulogenesis pada pembuluh darah maternal. (G) Di samping itu ekspresi dari *VEGF family members* pada sitotrofoblas mengalami regulasi turun. Ekspresi VEGF-A pada sitotrofoblas mengalami regulasi turun. Ekspresi VEGFR-1 pada sitotrofoblas mengalami regulasi turun. (H) Sekresi VEGFR-1 dari sitotrofoblas justru meningkat.^{2,3,5}

Kegagalan invasi trofoblas secara histologis akan nampak sebagai gambaran pendangkalan invasi, dan *poor maternal spiral arteriole remodeling*. Sel trofoblas fetal gagal menginvasi secara lengkap arteri spiralis uterus, gagal membuat koneksi baru antara arteriole spiralis dengan sistem vaskuler plasenta, dan menyebabkan arteri spiralis uterus dengan resistensi tinggi secara persisten, hal ini akan mengakibatkan terjadinya hipoksia dan iskemik plasenta. Iskemik plasenta pada preeklampsia akan mengakibatkan terjadinya disfungsi endothel secara sistemik pada sistem vaskuler maternal, walaupun dengan mekanisme yang sebagian besar masih belum diketahui. Kemungkinan melalui peran berbagai mediator plasenta, yang meliputi produk-produk *oxidative stress* yang dilepas ke dalam sirkulasi maternal, seperti *superoxide anion radicals* (*superoxide*; O_2^-) dan *hydrogen peroxide* (H_2O_2).²



Gambar 27. Skema Teori Iskemik Plasenta. Pada preeklampsia diduga bahwa iskemik plasenta yang terjadi adalah akibat dari kegagalan diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis trofoblas selama periode plasentasinya. Hipoksia dan iskemik plasenta akan mengakibatkan terjadinya disfungsi endothel maternal secara sistemik maternal, dan menimbulkan gejala klinis preeklampsia.

Hubungan antara Distribusi IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin pada Jaringan Trofoblas; dengan Kejadian Preeklampsia

Pada penelitian tahap II dan III, telah dilakukan pengukuran distribusi IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin pada Jaringan Trofoblas. Dari data yang ada disusun suatu kurva asosiasi antara distribusi IL-10 dan IFN- γ dengan proses diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis trofoblas pada plasenta normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia. Nampak penurunan distribusi rerata IL-10 dan peningkatan distribusi rerata IFN- γ pada jaringan trofoblas, sebanding dengan penurunan distribusi rerata HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin, pada jaringan trofoblas dari kelompok plasenta normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan paling rendah pada eklampsia.

MMP-9, dan VE-Cadherin, pada jaringan trofoblas dari kelompok plasenta normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan paling rendah pada eklampsia.

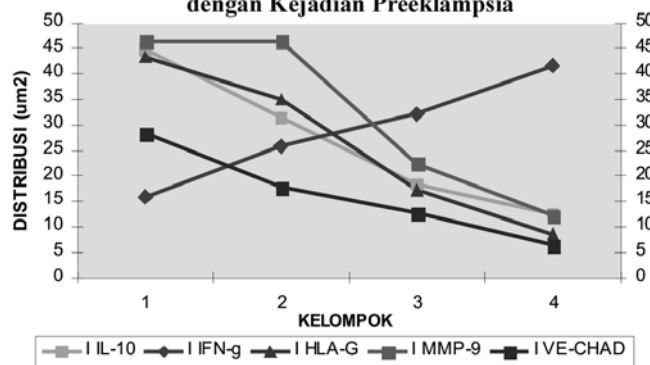
Makin rendah distribusi IL-10 dan makin tinggi distribusi IFN- γ pada jaringan trofoblas; maka makin rendah proses diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis jaringan trofoblas, makin berat preeklampsia. Makin tinggi distribusi IL-10 dan makin rendah distribusi IFN- γ pada jaringan trofoblas; maka makin tinggi diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis sel sitotrofoblas, makin ringan preeklampsia. (Gambar 28)

Hubungan antara Konsentrasi IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin pada Isolat Sel Sitotrofoblas; dengan Kejadian Preeklampsia

Pada penelitian tahap II dan III, telah dilakukan pengukuran konsentrasi IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin pada isolat sel sitotrofoblas. Dari data yang ada disusun suatu kurva asosiasi antara konsentrasi IL-10 dan IFN- γ dengan proses diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis trofoblas pada plasenta normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan eklampsia. Nampak penurunan konsentrasi rerata IL-10 dan peningkatan konsentrasi rerata IFN- γ pada sitotrofoblas trofoblas, sebanding dengan penurunan konsentrasi rerata HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin, pada sitotrofoblas dari kelompok plasenta normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan paling rendah pada eklampsia.

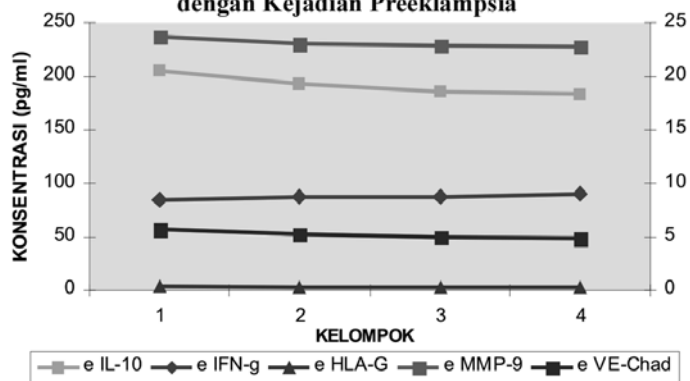
Makin rendah konsentrasi IL-10 dan makin tinggi konsentrasi IFN- γ pada sel sitotrofoblas; maka makin rendah proses diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis sel sitotrofoblas; makin berat preeklampsia. Makin tinggi konsentrasi IL-10 dan ma-

Hubungan antara Distribusi IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9 dan VE-Cadherin dengan Kejadian Preeklampsia



Gambar 28. Kurva Asosiasi Distribusi IL-10 dan IFN- γ dengan Proses Diferensiasi, Invasi, dan Pseudovaskulogenesis. Nampak penurunan distribusi rerata IL-10 dan peningkatan distribusi rerata IFN- γ pada jaringan trofoblas, sebanding dengan penurunan distribusi rerata HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin, pada jaringan trofoblas dari kelompok plasenta normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan paling rendah pada eklampsia.

Hubungan antara Konsentrasi IL-10, IFN- γ , HLA-G, MMP-9 dan VE-Adherin dengan Kejadian Preeklampsia



Gambar 29. Kurva Asosiasi Konsentrasi IL-10 dan IFN- γ dengan Proses Diferensiasi, Invasi, dan Pseudovaskulogenesis. Nampak penurunan konsentrasi rerata IL-10 dan peningkatan konsentrasi rerata IFN- γ pada sitotrofoblas, sebanding dengan penurunan konsentrasi rerata HLA-G, MMP-9, dan VE-Cadherin, pada sitotrofoblas dari kelompok plasenta normal, preeklampsia ringan, preeklampsia berat, dan paling rendah pada eklampsia.

kin rendah konsentrasi IFN- γ pada sel sitotrofoblas maka makin tinggi diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis sel sitotrofoblas, makin ringan preeklampsia. (Gambar 29)

in vitro pada hewan coba, atau kultur sel sitotrofoblas.

KESIMPULAN

Dari hasil dan analisis pada Penelitian Tahap I, II dan III dapat disusun kesimpulan sebagai berikut:

1. Makin tinggi distribusi dan konsentrasi IL-10; makin rendah distribusi dan konsentrasi IFN- γ pada jaringan trofoblas dan sel sitotrofoblas; makin tinggi diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis sel sitotrofoblas; makin ringan penyakit preeklampsia.
2. Makin rendah distribusi dan konsentrasi IL-10; makin tinggi distribusi dan konsentrasi IFN- γ pada jaringan trofoblas dan intrasel sitotrofoblas; makin rendah diferensiasi, invasi dan pseudovaskulogenesis sel sitotrofoblas; makin berat penyakit preeklampsia.

SARAN

Dalam penelitian ini karena berbagai alasan keterlaksanaan, dipilih desain studi observasional potong lintang. Dengan segala keterbatasannya sudah disadari bahwa, sebagai konsekuensi desain penelitian ini tidak akan dapat menjelaskan dengan baik hubungan sebab-akibat antar variabel penelitian. Untuk itu disarankan di masa mendatang dapat dipertimbangkan penelitian lanjutan peran IL-10 dan IFN- γ terhadap kegagalan proses diferensiasi, invasi, dan pseudovaskulogenesis sitotrofoblas pada preeklampsia menggunakan desain studi eksperimental

RUJUKAN

1. Wochenschr WK. Preeclampsia Theories and Speculations; The Mid Euro J of Med, Marz 2003; 115/5-6: 145-8
2. Mallet V, Blaschitz A, Crisa L, Schmitt C, Fournei S, King A, Loke YW, Dohr G, Le Bouteiller. HLA-G in the human thymus: a subpopulation of medulla epithelial but not CD83+ dendritic cells express HLA-G as a membrane-bound and soluble protein, International immunology, 1999; Vol 11 No 6: 889-98
3. Many A Hubel, Fisher SJ, Roberts JM, Zhou Y. Invasive Cyto-trophoblasts Manifest Evidence of Oxidative Stress in Preeclampsia. Am J of Pathology. 2000; 156: 321-31
4. Moreau P, Cabreste FA, Menier C, Guiard V, Gourand L, Dausset J, Carosella ED, Paul P. IL-10 selectively induces HLA-G expression in human trophoblasts and monocytes. International Immunology, 1999; vol 11 No 5: 803-11
5. Norwtz ER, Schust DJ, Fisher SJ. Implantation and the survival of early pregnancy. N Engl J Med 2001; 345: 19: 1400-08
6. Roth I, David B Corry, Richard M Locksley, John S Abrams, Mark J Litton, Susan J Fisher. Human Placental Cytotrophoblasts Produce the Immunosuppressive Cytokine Interleukin 10. J Exp Med, The Rockefeller University Press; volume 184, August 1996; 539-48
7. Silver RM, Branch W. The immunology of pregnancy, in Maternal-Fetal Medicine, by Creasy-Resnik, 4th Ed. W.B. Saunders Co, Philadelphia, Pennsylvania, 1999; Chapter 4: 72-85
8. Fisher SJ, Cui Tj, Zhang L, Hartman L, Grahl K, Guo-Yang Z, Tarpey J, Damsky CH. Adhesive and Degradative Properties of Human Placental Cytotrophoblast Cells In Vitro. The journal of Cell biology, Vol. 109, August 1989, 891-902