

EKSPRESI *HEAT SHOCK PROTEIN 90* (Hsp90) PADA LIVER MENCIT MODEL
PREEKLAMPSIA

THE EXPRESSION OF HEAT SHOCK PROTEIN 90 ON LIVER OF PREECLAMPSIA
MICE MODEL

Achmad Fahmi Wachidi*, M. Rasjad Indra**, Mudjiwijono Handaru Eko***

*Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

**Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

***Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

ABSTRACT

Preeclampsia is a disease that only appear on pregnant mother which at first began in placenta then affect whole systemic and in fact that this disease is still less being studied about the mechanism. One of the mechanism that suspected to have a role in preeclampsia is cheparone Heat shock protein (Hsp90). This studies aims for testing whether there is relation between alteration of Hsp90 ekspresion in liver on preeclampsia disease. This exspermental study is using post test control group desingn in famale BABL/C mice. Sample is devided in three group which is 1) negative control "nonpregnant normal mice" (n=6), 2) positive control "normal pregnant mice" (n=6), 3) treatment group "pregnant mice with injection of severe preeclampsia pregnant mother serum" (PEB). Variable which being counted is Hsp90 exspression with using immunohistochemistry method. ANOVA test result showed that there is significant differences between three group ($p=0,000$). *Tukey's HSD* (honest significant difference) test result showing that control positive group and treatment control PEB model is significantly difference ($p=0,000$). The conclution of this study is adiministration of pregnant mother serum with PEB take effect on decreased Hsp90 expression on mice liver.

Keywords : Hsp90 expression, liver, severe preeclampsia

ABSTRAK

Preeklampsia adalah penyakit yang hanya terdapat pada ibu hamil yang bermula pada plasenta kemudian berakibat ke sistemik, pada kenyataannya penyakit ini masih kurang banyak dipelajari tentang mekanismenya. Salah satu mekanisme yang dicurigai berperan dalam preeklampsia adalah *cheparone Heat shock protein 90* (Hsp90). Penelitian ini bertujuan untuk menguji apakah terdapat hubungan antara perubahan ekspresi Hsp90 dalam liver pada penyakit preeklampsia. Studi eksperimental ini menggunakan *post test control group design* terhadap mencit BABL/C betina. Sampel dibagi dalam tiga kelompok yaitu 1) mencit kontrol negatif normal tidak bunting (n=6), 2) mencit kontrol positif bunting normal (n=6), 3) kelompok mencit perlakuan dengan pemberian injeksi serum ibu preeklampsia berat (PEB). Variabel yang diukur adalah ekspresi Hsp90 dengan cara

menggunakan metode immunohistokimia. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antar tiga kelompok ($p=0,000$). Hasil uji Tukey's HSD (*honest significant difference*) menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan model PEB berbeda signifikan ($p=0,000$). Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian serum PEB ibu hamil pada mencit bunting menyebabkan penurunan ekspresi Hsp90 pada liver mencit.

Kata kunci : ekspresi Hsp90, liver, preeklampsia berat

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki Angka Kematian Ibu (AKI) dan Angka Kematian Bayi yang masih tinggi dibandingkan negara-negara di Asia Tenggara. Berdasarkan Survey Demografi Kesehatan Indonesia (SKDI) tahun 2007, AKI di Indonesia mencapai 228/100.000 kelahiran hidup (Damayanti NP, 2013).

Meskipun patofisiologi preeklampsia masih tidak teridentifikasi, namun *Ischemic Plasental* merupakan kunci utamanya. Masa awal kehamilan, sel *cytotrophoblast* masuk ke arteri spiralis pada uterus, menggantikan susunan endothelial pada pembuluhnya dengan menghancurkan jaringan ikat, otot dan jaringan saraf. Namun pada kasus preeklampsia terjadi kegagalan *remodeling* pada arteri spiralis uterus untuk suplai darah di fetus yang sedang berkembang. Rata-rata diameter eksternal arteri spiralis uterus pada wanita preeklampsia kurang dari setengah dari diameter pada kehamilan yang tidak mengalami komplikasi. Kegagalan pada *remodeling* vaskular ini mencegah respon

adekuat untuk meningkatkan permintaan aliran darah yang terjadi pada proses gestasi (Granger *et al*, 2001). Penjelasan ini merupakan dugaan kenapa terjadi kegagalan vasodilatasi pada wanita preeklampsia yang menyebabkan penurunan perfusi pada plasenta.

Jalur NO terdapat secara luas dan berperan pada berbagai macam kondisi fisiologi, meliputi mempertahankan lebar vaskular, fungsi neurotransmitter pada kedua sistem saraf perifer maupun sistem saraf pusat dan mediasi dari pertahanan seluler. NO berinteraksi dengan sistem mitokondrial untuk meregulasi respirasi sel dan untuk meningkatkan penurunan dari *reactive oxygen species* (ROS), dengan demikian memicu mekanisme kematian atau keselamatan sel. NO telah dilibatkan pada beberapa penyakit kardiovaskuler dan sebagai semua faktor resiko yang berhubungan dengan penurunan pembentukan NO di sel Endotel. Pengurangan sintesis basal NO menyebabkan terjadinya proses vasokonstriksi, peningkatan tekanan darah dan pembentukan trombus (Moncada *et al*, 2006). Salah satu kasus preeklampsia yang diyakini patofisiologinya yaitu terjadi

kegagalan dalam vasodilatasi yang menunjukkan bahwa terjadinya defisiensi dalam pembentukan *nitric oxide* (NO).

Endothelial nitric-oxide syntase (eNOS) adalah enzim yang sangat penting untuk mengatur Ca^{2+} /*calmodulin* (CaM)-*dependent enzyme* yang bertanggung jawab atas pembentukan umum NO. eNOS juga diatur oleh lokalisasi subselular, modifikasi *post-translational* seperti fosforilasi oleh Akt/protein kinase B dan interaksi dengan berbagai protein pengatur seperti halnya *heat shock protein 90* (Hsp 90). Hsp90 memicu pengaktifan eNOS dengan interaksi langsung dengan enzim. paparan dari sel endotel (ECs) ke *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan estrogen keduanya meningkatkan hubungan antara Hsp90 dengan eNOS dan eNOS yang terfosforilasi oleh Akt, menuju pada peningkatan pembentukan NO. Hasil penelitian (Takahashi S dan Mendelsohn ME, 2003) menyatakan bahwa pada sel endotel yang diaktifkan oleh stimuli diatas, inhibisi dari Hsp90 atau Akt menunjukan terjadinya pengurangan produksi NO (Takahashi S dan Mendelsohn ME, 2003). Berdasarkan dari jurnal yang ditemukan kekurangan pembentukan NO pada kasus preeklampsia juga disebabkan oleh penurunan Hsp90.

Kurangnya penelitian tentang Hsp90 pada ibu hamil dengan preeklampsia adalah tujuan utama kenapa penelitian ini diadakan. Seperti yang diketahui dari

penelitian oleh (Takahashi S dan Mendelsohn ME, 2003) bahwa Hsp90 memiliki peran penting dalam aktivitas eNOS yang memiliki fungsi sebagai induksi eNOS, namun peran Hsp90 pada eNOS masih kontroversi, tidak bisa dipungkiri lagi bahwa eNOS sangatlah penting bagi tubuh sebagai sintesa NO yang fungsinya sangatlah luas di system vaskuler seluruh tubuh, berdasarkan fakta-fakta tersebut memang masih sedikit penelitian tentang pengaruh Hsp90 pada ibu hamil dengan preeklampsia. Beberapa alasan diatas adalah merupakan alasan-alasan kenapa dilakukan penelitian ini, karena keterbatasan penelitian Hsp90 pada sistemik penderita preeklampsia penelitian ini menggunakan organ hewan coba terlebih dahulu yaitu organ hepar pada mencit.

METODE DAN BAHAN

Metode Penelitian

Penelitian ini memakai penelitian True Experimental menggunakan *Post test only group design* dengan membagi 3 kelompok mencit penelitian, yaitu kelompok 1 mencit tidak bunting dan tidak diberi injeksi serum preeklampsia berat lalu kelompok 2 mencit yang bunting dan tidak diberi injeksi serum preeklampsia berat dan kelompok yang ke 3 mencit yang bunting dan di injeksi serum preeklampsia berat. Data penelitian ini menggunakan mencit galur BALB/C sebanyak 18 ekor yang memenuhi kriteria

inklusi. Variabel bebas penelitian ini yaitu injeksi serum preeklampsia sebanyak 0,1 cc pada mencit bunting. Variabel terikat pada penelitian ini ialah gambaran Hsp90 pada liver tikus bunting yang diinjeksi serum preeklampsia berat. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Biokimia Fakultas kedokteran September 2015 – januari 2016.

Mencit BABL/C betina pada penelitian ini digolongkan menjadi 3 kelompok sesuai dengan pembagian kelompok sampel penelitian yaitu kelompok kontrol negatif (mencit normal tidak bunting, kelompok kontrol positif (mencit bunting normal) dan kelompok perlakuan (mencit bunting yang diberikan injeksi serum ibu preeklampsia berat. Kemudian dilakukan pembeddahan pada usia kehamilan 18 hari mencit dibedah sehingga dapat diambil darah dan organnya untuk pengecekan variabel, mengacu penelitian yang dilakukan oleh (Zhou et al, 2010).

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang pemeliharaan hewan coba, tutup kandang dari anyaman kawat, sekam, botol minum, alat semprot, tempat makan, pakan cornfeed (makanan standar mencit), serum pasien preeklampsia berat, reagen kimia immunohistokimia yaitu anti-Hsp90 kemudian alat dalam penelitian ini adalah

sentrifugator, alat untuk bedah dan mikroskop

Pelaksanaan penelitian

pengambilan dan penyimpanan serum darah ibu hamil normal dan PEB

Serum diambil dari darah pasien yang hamil normal dan pasien yang terdiagnosis PEB. Pasien yang diambil darahnya diberikan penjelasan tentang tujuan dan prosedur yang akan dilakukan serta diminta menandatangani lembar persetujuan (*informed consent*). Pengambilan darah harus dalam kondisi steril untuk mencegah terjadinya kontaminasi sampel darah. Darah diambil dari pembuluh darah vena menggunakan spuit 5 cc sebanyak 5 cc kemudian disimpan dalam *plain vacutainer* dan didiamkan pada suhu 4⁰C selama 12 jam. Setelah eritrosit mengendap, serum darah diambil dengan menggunakan mikropet dan dimasukkan ke dalam *plain vacutainer* yang baru. Selanjutnya disentrifugasi pada 6000 rpm selama 10 menit. Serum dihomogenkan, dimasukkan dalam ependof dan disimpan dalam suhu -40⁰C sampai siap untuk digunakan.

Membuntingkan mencit

Mencit betina usia 16 minggu (sudah masa reproduksi) dipisahkan dari mencit jantan selama 2-3 minggu sehingga mencit betina berada dalam kondisi *unestrus* (efek Leeboot). Kemudian mencit betina diberikan bau mencit jantan selama

72 jam untuk memulai kembali siklus estrus (efek feromon). Mencit jantan dan betina dikawinkan dengan perbandingan (1:1) selama 1 malam (Fitri *et al*, 2015) dimulai pada jam 19.00 wib sampai jam 06.00 wib keesokan harinya. Untuk mengetahui apakah sudah terjadi fertilisasi dilakukan dengan melihat *vaginal plug* pada mencit betina.

Injeksi intraperitonium serum pasien preeklamps berat

Injeksi serum pasien preeklamps secara intraperitoneal pada bagian lateral perut mencit menggunakan syring 1 cc dengan jarum yang tajam dan baru, sterilisasi menggunakan alkohol 70%, lalu menginjeksi serum pasien preeklamps sebanyak 0,1 cc, mencit diinjeksi 2 kali yaitu pada usia kehamilan 14 dan 15 hari

Pengukuran tensi

Pengukuran tekanan darah dilakukan pada mencit bunting dilakukan 1 kali setelah injeksi serum ibu yaitu pada usia gestasi hari ke 15. Prosedur pemeriksaan di Laboratorium Fisiologi FK UB disesuaikan pada prosedur alat pengukuran tekanan darah sebagai berikut: 1) Sebelum memulai pengukuran, angkat penutup CODA dan mengukur suhu ekor hewan dengan menunjuk termometer inframerah didasar ekor itu. Suhu harus antara 32 dan 35⁰ C. Jangan memulai pengukuran jika suhu tidak mendekati 32⁰ C. pastikan seluruh ekor

hewan coba terletak pada permukaan pemanas. Dapat menggunakan CODA pada ekor untuk membanti menjaga suhu optimal untuk mengukur tekanan darah. 2) Memposisikan hewan coba pada pegangan yang berbentuk seperti tabung dengan memastikan ekor hewan coba berada di luar. 3) Geser VPR manset sampai ekor, dengan ujung diameter yang lebih besar pertama, sampai mencapai manset oklusi. Jika ada perlawanan sementara menggeser VPR manset sampai ekor. Tidak memaksa pada posisi. Cukup gunakan manset satu ukuran yang lebih besar. Jika ekor bengkak dapat dirasakan pada setiap bagian dari ekor selama ada porsi yang cukup pada manset VPR. 4) Mengamankan manset tabung oklusi yang terletak di belakang pengikat hitam di atas dudukan. Hal ini akan membantu dalam menjaga manset di posisi.

Pengukuran protein uria

Pengukuran urin dilakukan setelah diinjeksi serum pada usia gestasi hari ke-15. Urin mencit diambil dengan cara mencit ditempatkan pada wadah berbentuk corong yang diberi jaring-jaring pada bagian tengahnya. Jaring-jaring berfungsi sebagai dasar pijakan mencit dan penyaring kotoran mencit. Urin yang berupa cairan dapat melewati jaring-jaring dengan mudah ke dasar corong. Dasar corong dapat dibuka dan berupa wadah kecil sehingga urin yang jatuh ke dasar

corong dapat diambil dengan mudah dengan cara membuka dasar corong. Wadah corong diletakkan pada lingkungan yang dingin dapat dilakukan dengan cara pemberian es pada sekitar wadah. Hal ini digunakan agar menciit banyak mengeluarkan urin dan urin telah terkumpul tidak mudah menguap. Pemberian es pada pinggiran wadah perlu dilakukan dengan hati-hati dan memastikan wadah tidak bocor agar cairan es yang meleleh tidak mengkontaminasi urin yang terkumpul. Urin yang telah terkumpul dimasukkan kedalam ependof menggunakan mikropipet dan dibawa ke Laboratorium Fisiologi untuk dilakukan pemeriksaan. Pengukuran albumin pada urin menciit menggunakan *ELISA KIT* yang dilakukan dengan manual guide.

Pembedahan menciit

Pada usia kehamilan 18 hari menciit dibedah sehingga dapat diambil darah dan organnya untuk pengecekan variabel, mengacu penelitian yang dilakukan oleh (Zhou et al, 2010)

Pembuatan histopatologi liver menciit

Pembuatan preparat menggunakan metode parafin merendam/menyimpan organ dengan formalin 10% kemudian dicuci dengan air minimal 1,5 jam setelah itu dilakukan dehidrasi secara bertahap agar tidak mengerut kemudian dilakukan penjernihan, digunakan jika cairan ditahap

dehidrasi tidak dapat bercampur dengan media impregnansi/blok. Parafiniasi dilakukan bertujuan untuk meningkatkan kekerasan jaringan dalam rangka pemotongan setipis mungkin kemudian dilakukan pengeblokan bertujuan untuk membuat blok paraffin dengan jaringan yang akan di potong didalamnya, di biarkan sampai dingin lalu di keluarkan dari cetaknya setelah itu Pemotongan blok paraffin bertujuan untuk memotong jaringan sesuai dengan ketebalan yang diinginkan untuk membuat sediaan histologi dan langkah terakhir adalah pemasangan pita sayatan ke gelas objek.

Pewarnaan Imunohistokimia Liver menciit

Slide dicuci dengan PBS pH 7,4 satu kali selama 5 menit. Bloking endogenous peroksida menggunakan 3% H_2O_2 selama 20 menit. Cuci menggunakan PBS pH 7,4 tiga kali, selama 5 menit. Bloking unspesifik protein menggunakan 5% FBS yang mengandung 0,25% Triton X-100. Cuci menggunakan PBS pH 7,4 tiga kali, selama 5 menit. Inkubasi menggunakan monoklonal anti Hsp90, selama 60 menit. Cuci menggunakan PBS pH 7,4 tiga kali, selama 5 menit. Inkubasi menggunakan anti mouse HRP konjugai selama 40 menit. Cuci menggunakan PBS pH 7,4 tiga kali, selama 5 menit. Tetesi dengan DAB (*Diamino Benzidine*) dan inkubasi selama 10 menit. Cuci menggunakan PBS pH 7,4 tiga kali, selama 5 menit. Cuci

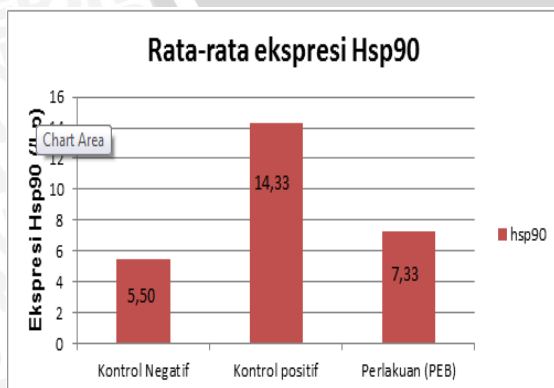
menggunakan dH_2O dan kering anginkan. Mounting menggunakan entelan dan tutup dengan cover glass. Amati pada mikroskop cahaya (Soini Y *et al*, 1997). Hsp90 dihitung dalam jumlah sel dihitung pada 20 lapang pandang berbeda, setelah dihitung kemudian dijumlah dan dibagi 20 agar mengetahui berapa rerata perlapang pandang. Perhitungan lapang pandangannya dengan pembesaran 1000x.

HASIL PENELITIAN

Data hasil penelitian disajikan dalam mean + simpang deviasi (SD). Sel fibroblas dihitung 20 lapang pandang bagian korteks dengan pembesaran 1000x pada mikroskop cahaya.

Tabel 5.1 Perbedaan Ekspresi Hsp90 dalam Liver Mencit pada Kontrol Positif dan Perlakuan

Kelompok pengamatan	N	Rerata \pm Stan.deviasi
Kontrol Negatif	6	5,50 \pm 2,67 ^a
Kontrol positif	6	14,33 \pm 2,16 ^b
Perlakuan (PEB)	6	7,33 \pm 1,37 ^a



Gambar 1. Diagram Rerata Perhitungan Ekspresi Hsp90 pada Liver Mencit Model Preeklampsia

Penelitian ini hasil analisis data pada uji normalitas dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Adapun kriteria keputusan, yaitu bila nilai Sig atau *p-value* lebih besar dari taraf signifikansi $\alpha = 0,05$ maka data terdistribusi normal dan sebaliknya bila nilai Sig atau *p-value* lebih kecil dari taraf signifikansi $\alpha = 0,05$ maka data tidak terdistribusi normal. 2 hasil uji *Shapiro-Wilk* diperoleh bahwa data ekspresi Hsp90 untuk masing-masing kelompok pengamatan telah menunjukkan nilai *p-value* yang semuanya lebih besar dari taraf signifikansi $\alpha = 0,05$. Setelah mengetahui bahwa data terdistribusi normal, selanjutnya menentukan apakah data memiliki varian yang berbeda atau tidak dengan menggunakan uji homogenitas. Pada tabel uji homogenitas didapatkan bahwa data memiliki varian yang sama ($p > 0,05$) dengan nilai $p = 0,203$, dengan demikian dapat dilakukan pengujian dengan One-Way Anova karena syarat kenormalan data telah terpenuhi.

Analisis dengan menggunakan uji One-way ANOVA bertujuan untuk mengevaluasi perbedaan ekspresi Hsp90 pada liver antar kelompok. Berdasarkan uji statistik ini dapat diketahui apakah terdapat perbedaan jumlah ekspresi Hsp90 yang signifikan antar kelompok. Perbedaan rata-rata jumlah sel ginjal

dianggap bermakna jika nilai $p < 0,05$. Dari hasil pengujian didapatkan bahwa nilai $p = 0,000$ sehingga dapat disimpulkan bahwa “terdapat perbedaan ekspresi Hsp90 pada liver mencit setidaknya antara dua kelompok yang berbeda”.

Tabel 5.2 Hasil Uji Post-Hoc

Perbandingan Antar Kelompok		Nilai p
Kontrol negatif	Kontrol positif	0,000
	Perlakuan	0,324
Kontrol positif	Kontrol negatif	0,000
	Perlakuan	0,000
Perlakuan	Kontrol negatif	0,324
	Kontrol positif	0,000

Berdasarkan Uji Komparasi Tukey dapat disimpulkan bahwa pemberian injeksi serum ibu preeklampsia berat pada mencit Balb/C menyebabkan penurunan ekspresi Hsp90 bila dibandingkan dengan mencit kontrol positif yang tidak diberi injeksi serum.

PEMBAHASAN

Pengaruh Kehamilan terhadap Ekspresi Hsp90 pada Liver Mencit Bunting Normal

Diketahui bahwa ekspresi Hsp90 pada organ hepar kelompok K(-) yaitu sebesar $5,50 \pm 2,67/Lp$ lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok yang

dibuat bunting K(+) sebesar $14,33 \pm 2,16/Lp$. Uji statistik yang dilakukan pada ekspresi Hsp90 pada organ hepar kelompok K(-) dan kelompok K(+) menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok tersebut ($p = 0,000$). Ekspresi Hsp90 pada liver kelompok K(+) yang tinggi mengindikasikan bahwa ekspresi Hsp90 pada kelompok ini mengalami peningkatan. Hal ini terjadi karena saat kehamilan, tubuh maternal mengalami perubahan hemodinamik yang signifikan untuk memastikan pertumbuhan normal fetal, menghasilkan peningkatan *cardiac output* 30%-40%, peningkatan jumlah darah yang disirkulasikan, yang akhirnya menimbulkan peningkatan berat badan tubuh selama terjadinya kehamilan. Meskipun terjadi peningkatan volume darah, pada ibu hamil normal tidak mengalami perubahan tekanan darah yang signifikan. Hal ini dikarenakan terutama terjadinya penurunan total tahanan darah tepi yang terutama di level arterioral (Zhao Hui *et al*, 2007).

Penurunan resistensi pembuluh darah ini seperti halnya yang disebutkan di berbagai jurnal yaitu karena adanya peningkatan kadar NO dalam darah seluruh sistemik. Fakta ini seperti halnya yang dikatakan pada jurnal penelitian milik (Moncada & Higgs, 2006) bahwa NO yang meningkat selama kehamilan, memimpin kita kepada pembelajaran dari efek estrogen pada sintesis NO, hasil dari

penelitian ini bahwa oestrogen tidak hanya meningkatkan aktivitas eNOS namun juga meningkatkan ekspresinya. Fakta ini juga ditemukan dalam penelitian oleh Beylis C *et al*, 1991, bahwa penelitian pada kelinci, marmot dan tikus bahwa blockade sintesis NO menimbulkan peningkatan tekanan darah sistemik. Hal ini menunjukkan bahwa pengaruh sintesis NO yang berlebihan atau berkurang akan menimbulkan efek ke seluruh sistemik (Beylis C, *et al*, 1991).

Hubungan antara *heat shock protein 90* (Hsp90) dengan *endothelial nitric-oxide synthase* (eNOS) merupakan langkah penting dalam mekanisme yang dilakukan eNOS untuk menghasilkan NO (Pritchard *et al*, 2001). Seperti pembahasan yang diatas kita mengetahui bahwa terjadinya peningkatan NO di suatu tempat akan menimbulkan efek yang serupa ke sistemik, dan peningkatan NO ini juga diikuti oleh peningkatan eNOS yang kita ketahui eNOS adalah enzim utama dalam penghasilan NO. Berdasarkan jurnal penelitian Takahashi S dan Mendelsohn ME, 2003, ditemukan bahwa dengan menggunakan protein murni Hsp90 meningkatkan kinerja eNOS dalam tingkat Ca^{2+} yang tinggi. Berdasarkan Jurnal diatas yang kita ketahui kinerja eNOS juga dipengaruhi oleh Hsp90, dari hasil penelitian ini diduga bahwa ekspresi Hsp90 juga mengalami peningkatan secara sistemik seperti data yang ditunjukkan pada ekspresi Hsp90 pada

hepar mencit bunting kelompok K(+) yang meningkat signifikan dari mencit tidak bunting kelompok K(-).

Pengaruh Pemberian Serum Ibu Preeklampsia Berat (PEB) terhadap Ekspresi Hsp90 pada Liver Mencit Bunting Model Preeklampsia

Perbandingan ekspresi Hsp90 pada liver mencit bunting kelompok perlakuan (PEB) mengalami penurunan yang signifikan seperti yang ditunjukkan dalam data uji statistic yaitu sebesar $7,33 \pm 1,37/Lp$, penurunan ini cukup signifikan bila dibandingkan dengan kelompok K(+) yaitu $14,33 \pm 2,16/Lp$ dengan perbedaan signifikan antara kedua kelompok tersebut sebesar ($p=0.000$). Berdasarkan data diatas, penelitian ini menunjukkan bukti terjadinya penurunan ekspresi Hsp90 pada liver mencit bunting model preeklampsia.

Preeklampsia merupakan sindrom sistemik dari kehamilan yang awal mulanya dikarenakan placenta. Hal ini dikarenakan ketidak adekuatan invasi dari *cytotrophoblast placenta*, yang diikuti dengan penyebaran luas disfungsi sel endothelial maternal (Young BC *et al*, 2010). Jurnal penelitian Myatt L dan Webster RP, 2008, juga dimungkinkan terdapat preeksistensi perubahan pada fungsi/reaktivasi vaskuler yang dihasilkan dari respon sistemik terhadap stres inflamasi dan oxidative/nitrative dalam ibu hamil karena inadkuatnya perfusi

placenta yang menyebabkan preeklampsia, kemudian setelah inadekuatnya perfusi placenta ini akan mengakibatkan hypoxia pada placenta yang berakibatkan percepatan pengelupasan *syncytiotrophoblast basement membrane fragments* (STBM) yang kemudian STBM ini merusak dan mengaktifasi respon inflamasi sistemik yang berlebihan. Inflamasi seluler di obesitas dapat merubah kondisi vaskuler dan maka dari itu hal ini juga berpotensi pada kehamilan yang bahkan menyebabkan inflamasi yang lebih hebat kemudian terjadi stress oxidative dan nitratif (Myatt L dan Webster RP, 2008).

Stress oksidatif dan nitratif yang berlebihan ini menyebabkan penurunan produksi NO seiring dengan disfungsi vaskuler yang menyeluruh. Terganggunya sintesis dari NO ini menyebabkan vasokonstriksi dan perfusi yang tidak adekuat, dalam penelitian jurnal lain juga ternyata produksi utama NO yaitu eNOS ternyata mengalami peningkatan jumlah yang mungkin merupakan mekanisme kompensasi tubuh pada endotel vaskuler wanita preeklampsia (Myatt L dan Webster RP, 2008). Namun ini tidak membuktikan bahwa peningkatan eNOS akan meningkatkan kadar NO dalam tubuh wanita preeklampsia. Hal ini dikarenakan eNOS dalam aktivasinya membutuhkan zat-zat lain agar menghasilkan NO secara aktif seperti penelitian di jurnal lain antara lain Arginine

(Myatt L dan Webster RP, 2008), $Ca^{2+}/Calmodulin$ dan VEGF (Brouet A *et al*, 2001) (Takahashi S dan Mendelsohn ME *et al*, 2003), dan Hsp90 (Pritchard KA *et al*, 2001) (Brouet A *et al*, 2001) (Takahashi S dan Mendelsohn ME *et al*, 2003).

Beberapa zat diatas berkaitan dengan penelitian ini mengindikasikan dicurigainya terjadi penurunan Hsp90 secara sistemik dalam mencit bunting model preeklampsia bisa dibuktikan karena Hsp90 merupakan protein penting dalam aktivasi eNOS, seperti yang dijelaskan di jurnal Takahashi S dan Mendelsohn ME *et al*, 2003, yaitu penampakan sel endotel terhadap *vascular endothelial growth factor* (VEGF), estrogen menginduksi peningkatan hubungan dari Hsp90 dengan eNOS yang menghasilkan peningkatan dari produksi NO, hal ini telah terbukti lebih jauh lagi bahwa dalam sel endotel aktivasi oleh rangsangan lain inhibisi maupun Hsp90 atau Akt akan menyebabkan pengurangan produksi NO (Takahashi S dan Mendelsohn ME *et al*, 2003).

Seperti yang dikatakan dalam jurnal penelitian Myatt L dan Webster RP, 2008, inflamasi yang menyeluruh yang menyebabkan disfungsi endotel yang kemudian berakhir dengan penurunan produksi NO merupakan hal yang paling menjelaskan kenapa terjadinya vasokonstriksi sistemik yang menimbulkan peningkatan tekanan darah pada wanita

hamil preeklampsia (Myatt L dan Webster RP, 2008). Meskipun produksi NO yaitu eNOS mengalami peningkatan regulasi seperti dikatakan pada jurnal penelitian (Dietmar, 2003) dan (Myatt L dan Webster RP, 2008). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terjadinya penurunan Hsp90 yang signifikan ($p=0,000$) pada liver mencit bunting model preeklampsia diduga bahwa Hsp90 juga berperan penting dalam disfungsi endotel yang menyeluruh pada model ini.

KESIMPULAN

Pemberian serum ibu preeklampsia berat pada mencit bunting model preeklampsia menyebabkan terjadinya penurunan ekspresi Hsp90 pada organ liver mencit.

DAFTAR PUSTAKA

- Beylis, C, Mitruka, B, Deng, A. (1992). Chronic Blockade of Nitric Oxide Synthesis in the Rat Produces Systemic Hypertension and Glomerular Damage. *J. Clin. Invest.*, 90, 278-281
- Brouet, A., Sonveaux, P., Dessy, C., Balligand, J.L., Feron O.(2001). Hsp90 Ensures The Transition from the Early Ca^{2+} dependent to the Late Phosphorylation-dependent Activation of the Endothelial Nitric-oxide Synthase in Vasclar Endothelial Growth Factor-exposed Endothelial Cells. *J.Biol.Chem*, 276:32663-32669
- Damayanti, NP, 2013. Preeklampsia-Eklampsia berjaya sebagai penyebab utama Kematian Ibu. <http://www.kesehatan.kebumenkab.go.id/9-uncategorised/berita/1-preeklamsia-eklamsia-berjaya>
- [sebagai-penyebab-utama-kematian-ibu.](#)
- Dietmar S, (2003), PRE-ECLAMPSIA-STILL A DISEASE OF THEORIES, Fukushima J. Med. Sci. Vol. 49, No.2
- Granger, J.P., Alexander, B.T., Llinas, M.T., Bennett, W.A., Khalil, R.A. (2001). Pathophyiology of Hypertension During Preeclampsia Linking Placental Ischemia With Endothelial Dysfunction. *Hypertension*, ;38;718-722
- Moncada S., Higgs E.A. (2006). The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology. *British Journal of Pharmacology*, 147, S193-S201
- Myatt L., Webster R.P. (2009). Vascular Biology of Preeclampsia, *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 7: 375–84.
- Pritchard, K.A., Ackerman, Jr .A.W., Gross, E.R., Stepp, D.W., Yang, S., Fontana, J.T., et al. (2001). Heaat Shock Protein 90 Mediates the Balance of Nitric Oxide and Superoxide Anion from Endothelial Nitric-oxide Synthase. *J.Biol Chem*, 276:17621-17624
- Takahashi, S., Mendelsohn, M.E. (2003). Synergistic Activation of Endothelial Nitric-oxide Synthase (eNOS) by HSP90 and Akt: CALCIUM-INDEPENDENT eNOS ACTIVAION INVOLVES FORMATION OF AN HSP90-Akt-CaM-BOUND eNOS COMPLEX. *J.Biol.Chem*, 278:30821-30827.
- Young, B.C., Levine, R.J., Karumanchi, S.A. (2010). Pathogenesis of Preeclampsia, *The Annual Review of Pathology Mechanisms of Disease*, 5:173–92
- Zhao, H., Wong, R.J., Doyle, T.C., Nayak, N., Vreman, H.J., Contag, C.H., et al. (2007). Regulation of Maternal and Fetal Hemodynamics by Heme Oxygenase in Mice,

BIOLOGY OF REPRODUCTION,
78, 744–751

Zhou, C.C., Roxanna, A.I., Zhang, Y., *et al.* (2010). Angiotensin Receptor Autoantibody-Mediated Tumor Necrosis Factor- α Induction Contributes to Increased Soluble Endoglin Production in Preeclampsia, *Circulation*,; 121:436-444

