

Aktivitas Scavenging Nitrit Oksida oleh Hemoglobin dan Tekanan Darah pada Preeklampsia

The Nitric Oxide Scavenging Activity by Hemoglobin and Blood Pressure in Preeclampsia

Muchlisich Syachrumyah¹, Suciati², Eko Suhartono³, Bambang Setiawan⁴

¹Bagian Obstetri dan Ginekologi RSUD Ratu Zalecha Martapura FK, ²RSUD Ratu Zalecha- Martapura, ³Bagian Kimia Kedokteran FK, ⁴Kelompok Studi Radikal Bebas dan Pemanfaatan Bahan Alam FK, Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru, Kalimantan Selatan

Abstract

The research of nitric oxide scavenging by hemoglobin and blood pressure in preeclampsia had been done. Aims of this research were to measure methemoglobin level as an index nitric oxide and its correlation to blood pressure. Sixty pregnant were women involved in this study. Thirty subject were normal pregnancy and preeclampsia. Preeclampsia group were consist of 18 mild preeclampsia and 12 severe preeclampsia. The methods, to measure methemoglobin based on Evelyn and Malloy methods with spectrophotometer. Meanwhile, Blood pressure is measured with auscultation methods. The result showed that methemoglobin level, systolic and diastolic pressure preeclampsia higher than normal significantly. There is a positive correlation between methemoglobin level and blood pressure in mild preeclampsia. In severe preeclampsia, there is negative correlation between methemoglobin level and blood pressure. Beside that, correlation between methemoglobin level and sistolic pressure has positive correlation and negative correlation found between methemoglobin level and diastolic pressure in normal pregnancy. This study conclude that nitrite oxide scavenging activity by hemoglobin have correlation to blood pressure change in normal pregnancy and preeclampsia.

Key words: *nitric oxide, methemoglobin level, blood pressure, scavenging*

Abstrak

Telah dilakukan penelitian tentang aktivitas *scavenging* nitrit oksida oleh hemoglobin dan tekanan darah. Penelitian ini bertujuan untuk mengukur kadar methemoglobin sebagai parameter nitrit oksida dan korelasinya dengan tekanan darah. Sebanyak 60 orang wanita hamil terlibat dalam penelitian ini. Pada subjek tersebut, 30 orang tergolong hamil normal dan 30 orang didignosis preeklampsia. Kelompok preeklampsia terdiri atas 18 orang preeklampsia ringan dan 12 orang preeklampsia berat. Metode pengukuran kadar methemoglobin digunakan metode Evelyn dan Malloy dan pengukuran tekanan darah dengan metode auskultasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar methemoglobin, tekanan sistolik dan diastolik pada preeklampsia (ringan dan berat) lebih tinggi bermakna daripada tanpa preeklampsia. Terdapat korelasi positif antara kadar methemoglobin dengan tekanan sistolik dan diastolik preeklampsia ringan. Pada preeklampsia berat korelasi kadar methemoglobin dan tekanan sistolik dan diastolik bernilai negatif. Pada kehamilan normal korelasi kadar methemoglobin bernilai positif dengan tekanan sistolik, sedangkan terhadap tekanan diastolik, berkorelasi negatif. Kesimpulan penelitian ini adalah aktivitas *scavenging* nitrit oksid oleh hemoglobin mempunyai korelasi terhadap perubahan tekanan darah pada kehamilan normal dan preeklampsia.

Kata kunci: *nitrit oksida, kadar methemoglobin, tekanan darah, scavenging*

Pendahuluan

Nitrit oksida merupakan molekul radikal bebas diatomik yang berperan secara prinsip pada pengaturan aliran darah basal dan hemostasis vaskular.¹ Nitrit oksida dibentuk melalui reaksi enzimatik yang melibatkan nitrit oksida sintase sebagai katalisis perubahan L-arginin menjadi L-sitrulin. Enzim nitrit oksida sintase mempunyai tiga macam isoform, yakni isoform yang tidak bergantung pada kalsium (nitrit oksida sintase terinduksi) dan isoform yang bergantung kalsium (nitrit oksida sintase endotel dan neuron).²

Selama kehamilan, nitrit oksida berperan penting pada pengaturan aliran darah fetal-plasenta.³ Hal ini dibuktikan adanya penurunan resistensi vaskuler dan tekanan arteri pada kehamilan normal. Meskipun demikian, peningkatan resistensi vaskuler dan tekanan arteri sering menyertai atau menjadi komplikasi kehamilan.⁴ Salah satu komplikasi kehamilan dengan gejala hipertensi adalah preeklampsia.

Preeklampsia merupakan kelainan progresif yang hanya terjadi pada kehamilan. Kelainan tersebut dicirikan oleh tekanan darah tinggi, pembengkakan pada ekstremitas bawah, dan proteinuria.^{5,6} Preeklampsia dapat menyebabkan persalinan prematur dan retardasi pertumbuhan janin.⁷

Di dunia, insidensi preeklampsia sebesar 3%-10% dari seluruh kehamilan.⁸ Berbeda dengan dunia berkembang, preeklampsia merupakan salah penyebab kematian ibu sebesar 20-80%.⁹ Di Indonesia, angka kejadian preeklampsia tahun 1970-1980, mencapai 5%. Pada tahun 1990-2000 angka kejadiannya meningkat menjadi 4,1%-14,3%.¹⁰ Meskipun demikian, hingga saat ini patofisiologi belum diketahui secara jelas.⁷

Salah satu dugaan penyebab preeklampsia adalah disfungsi endotel. Disfungsi endotel menyebabkan perubahan produksi nitrit oksida pada kehamilan.⁷ Penelitian Choi menyimpulkan adanya penurunan nitrit oksida plasma pada preeklampsia.¹¹ Penelitian Kossenjans

mengungkap adanya inaktivasi nitrit oksida oleh radikal superoksida ($-O_2^-$) membentuk peroksinitrit.¹²

Di Indonesia, penelitian yang berkaitan dengan bioavailabilitas nitrit oksida, belum banyak dilakukan. Oleh karena itu, pada penelitian ini bertujuan untuk mengkaji kaitan aktivitas pengikatan (*scavenging*) nitrit oksida oleh hemoglobin dengan tekanan darah pasien preeklampsia. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai pijakan penelitian selanjutnya, serta dapat dijadikan dasar dalam mempelajari mekanisme dan patofisiologi preeklampsia.

Bahan dan Cara

Penelitian ini dilaksanakan di RSUD Ratu Zaleha Martapura Kaimantan Selatan dan Laboratorium Kimia/Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat. Penelitian ini merupakan penelitian *observational study* secara *cross sectional*. Sampel dilakukan dengan cara *consecutive sampling*. Subjek penelitian sebanyak 30 wanita hamil dengan diagnosa preeklampsia dan 30 wanita hamil normal. Subjek penelitian adalah wanita hamil yang berobat ke Poliklinik dan Bangsal Obstetri dan Ginekologi RSUD Ratu Zalechah Martapura. Penelitian dilaksanakan sejak Juli-Desember 2004.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari Merck. Bahan-bahan tersebut antara lain SDS, buffer fosfat pH 6,8, $FeCl_3$, $K_3Fe(CN)_6$, larutan non ionic, KCN. Adapun yang digunakan pada penelitian ini meliputi Sphygmomanometer, stetoskop dupleks, spuit untuk pengambilan darah, sentrifuge, spektrofotometer dan tabung reaksi.

Prosedur penelitian ini terdiri atas pengukuran tekanan darah dan pemeriksaan kadar methemoglobin. Pengukuran tekanan darah dilakukan secara auskultatoir dan pemeriksaan kadar methemoglobin digunakan metode Evelyn dan Malloy^{13,14}. Data yang diperoleh diuji dengan menggunakan ANAVA dengan taraf kepercayaan 5% dan uji korelasi dengan bantuan SPSS versi 11.

Hasil

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh data preeklampsia, ringan, berat,

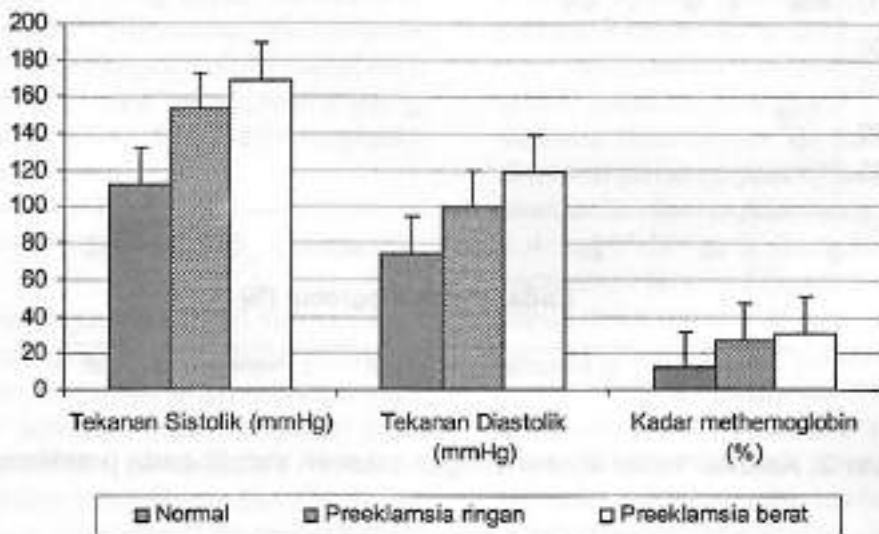
dan tanpa preeklampsia. Data secara lengkap disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik pasien preeklampsia ringan, berat, dan tanpa preeklampsia

Parameter	Tanpa preeklampsia (n=30)	Preeklampsia ringan (n=18)	Preeklampsia berat (n=12)
Umur (th)	26,90 ± 5,18	28,67 ± 7,36	31,33 ± 7,02
Masa gestasi (minggu)	36,50 ± 4,13	38,78 ± 3,46	37,67 ± 4,21
Hb (gr%)	11,01 ± 1,17	9,96 ± 2,02	11,08 ± 1,46
Trombosit (10 ⁴ /mm ³)	19,1333 ± 4,9808	16,1667 ± 7,5479	18,7500 ± 4,5352
Sistolik (mmHg)	112,00 ± 10,64	153,33 ± 17,49	169,17 ± 10,84
Diastolik (mmHg)	74,33 ± 6,79	99,44 ± 7,25	119,17 ± 13,79
Methemoglobin (%)	12,08 ± 7,39	26,88 ± 17,45	30,98 ± 16,68

Kadar methemoglobin, tekanan sistolik dan diastolik pada preeklampsia berat lebih tinggi bermakna daripada preeklampsia ringan dan tanpa preeklampsia (P<0,05). Sementara itu,

kadar methemoglobin, tekanan sistolik dan diastolik pada preeklampsia ringan lebih tinggi bermakna daripada tanpa preeklampsia (P<0,05). Diagram ketiga parameter disajikan pada gambar 1.



Gambar 1. Tekanan darah dan kadar methemoglobin pada preeklampsia

Koefisien korelasi antara tekanan sistolik dengan kadar methemoglobin dan

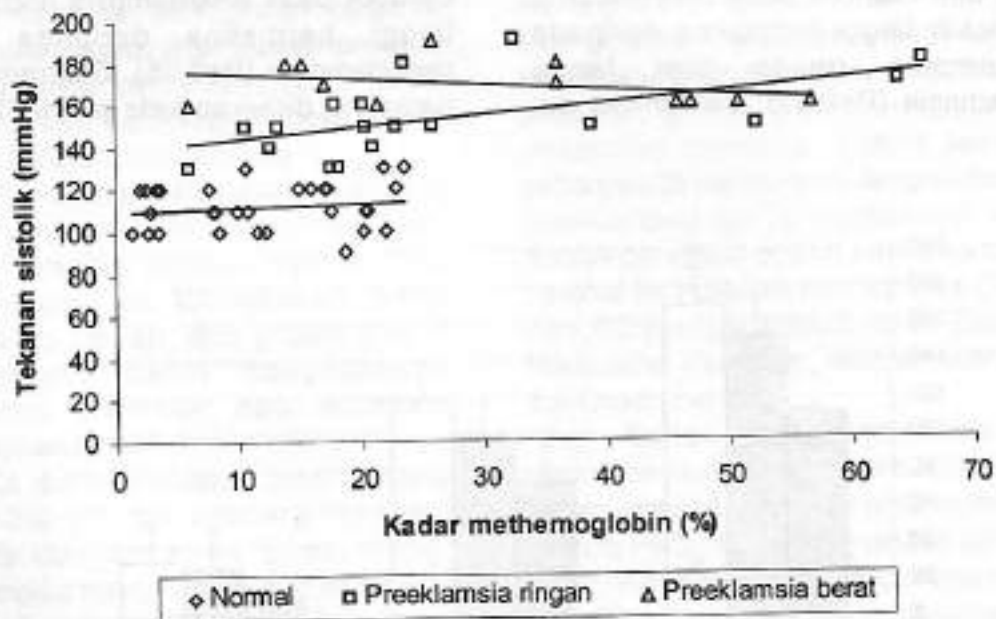
tekanan diastolik dengan kadar methemoglobin disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Koefisien korelasi antara kadar methemoglobin dengan tekanan darah pada preeklampsia

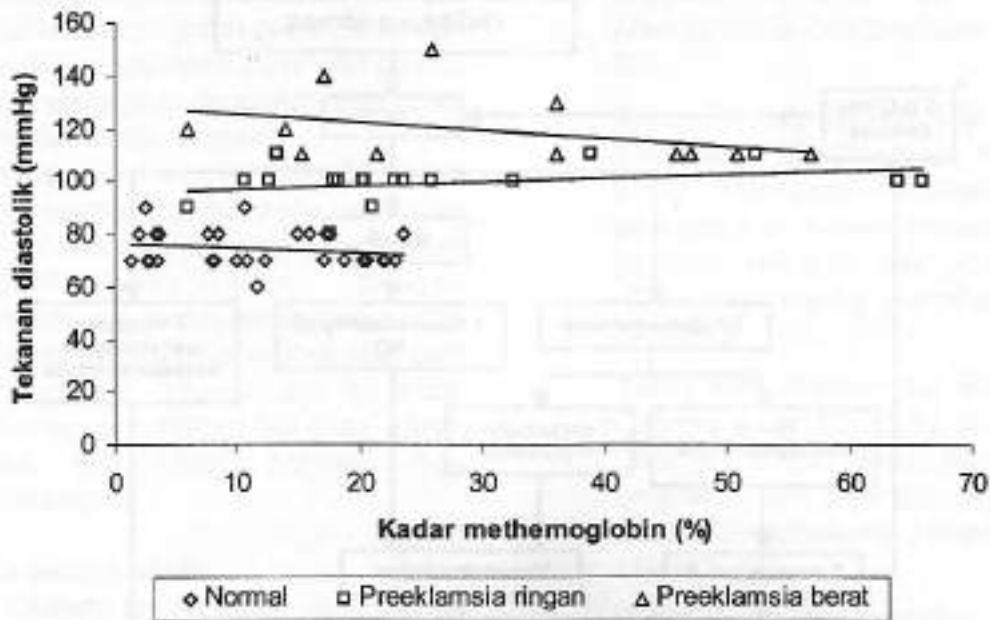
Parameter	Tanpa preeklampsia (n=30)	Preeklampsia ringan (n=18)	Preeklampsia berat (n=12)
Tekanan sistolik	0,12	0,55	-0,40
Tekanan diastolik	-0,19	0,32	-0,37

Korelasi antara tekanan sistolik dengan kadar methemoglobin disajikan pada gambar 2, sedangkan tekanan

diastolik dengan kadar methemoglobin disajikan pada gambar 3.



Gambar 2. Korelasi kadar MetHb dengan tekanan sistolik pada preeklampsia



Gambar 3. Korelasi kadar MethHb dengan tekanan diastolik pada preeklampsia

Diskusi

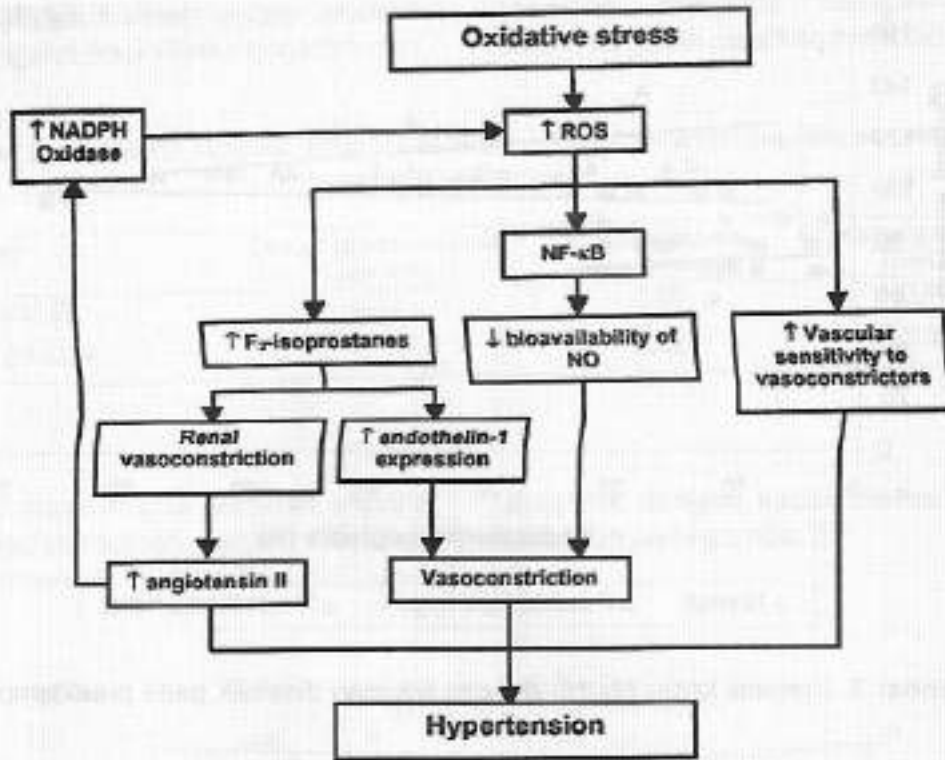
Nitrit oksida merupakan senyawa vasodilator poten yang dapat memodulasi tonus vaskuler.¹⁵ Konsumsi nitrit oksida secara ireversibel terjadi melalui reaksi nitrit oksida dengan oksihemoglobin yang menghasilkan nitrat dan methemoglobin melalui reaksi:¹⁶



Methemoglobin bukan merupakan pembawa oksigen yang ireversibel sehingga peningkatan kadarnya akan mengganggu oksigenasi jaringan. Methemoglobin juga memiliki aktivitas peroksidatif.¹⁷ Kadar methemoglobin lebih besar dari 5% dapat menimbulkan toksisitas.¹⁸ Pada penelitian ini, kadar methemoglobin pada preeklampsia berat lebih tinggi bermakna daripada preeklampsia ringan dan tanpa preeklampsia. Hal ini dapat dijelaskan melalui reaksi pengikatan NO oleh hemoglobin, sehingga hemoglobin tidak

dapat mengikat oksigen. Dengan demikian, secara tidak langsung, pengukuran methemoglobin dapat digunakan sebagai penanda kadar NO di dalam tubuh.¹⁵

Nitrit oksida mempunyai kemampuan untuk berdifusi melintasi membran dan struktur hidrofobik di dalam jaringan diantaranya hemoglobin. Reaksi antara nitrit oksida dan hemoglobin sangat cepat ($k = 3,4 \times 10^7 M^{-1} s^{-1}$), dan dari konstanta kecepatan tersebut dapat diketahui waktu paruh nitrit oksida sesuai dengan kadar hemoglobin (15 g/dl) di dalam darah yakni $2 \times 10^{-6} s$.¹⁹ Sebagai akibat tingginya kecepatan reaksi antara nitrit dengan hemoglobin teroksidasi, infus sel normoksik Hb pada kadar mM terhadap model binatang ataupun isolat vaskular akan menyebabkan vasokonstriksi secara bermakna akibat *scavenging* NO.²⁰ Dengan kata lain, setiap *scavenging* NO oleh hemoglobin akan mengurangi aktivitas NO sebagai vasodilator.



Gambar 4. Patofisiologi munculnya hipertensi pada preeklampsia²¹

Pengurangan bioavalabilitas NO akan memicu vasokonstriksi. Pada penelitian ini, terdapat korelasi positif antara tekanan sistolik dan diastolik dengan kadar methemoglobin pada kelompok preeklampsia ringan. Artinya, tekanan darah yang meningkat akan diikuti oleh kenaikan methemoglobin. Hal ini disebabkan oleh pengurangan bioavaliballitas nitrit oksida akibat proses *scavenging* oleh hemoglobin. Hasil ini sesuai dengan penelitian El-Salahy²², yakni terdapat peningkatan kadar nitrat (indikator nitrit oksida) pada kehamilan normal dibandingkan dengan wanita yang tidak hamil. Selain itu, terdapat penurunan kadar nitrat pada preeklampsia dibandingkan hamil normal. Fenomena ini mengindikasikan terjadinya vasokonstriksi dan peningkatan tekanan darah pada preeklampsia.

Meskipun demikian, pada preeklampsia berat, korelasi antara kadar methemoglobin dan tekanan darah bernilai negatif. Hal ini berarti bahwa setiap peningkatan kadar methemoglobin akan

diikuti penurunan tekanan darah. Beberapa alasan yang dapat menjelaskan fenomena ini, antara lain:

1. Terdapat indikasi bahwa peningkatan tekanan pada preeklampsia berat dapat disebabkan oleh berbagai faktor selain *scavenging* nitrit oksida oleh hemoglobin.
2. Peran vasodilator nitrit oksida juga diperankan oleh senyawa nitrosothiol, misalnya glutathion nitrosothiol dan sistein nitrosothiol.²³

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa:

1. Kadar methemoglobin, tekanan sistolik dan diastolik pada preeklampsia berat lebih tinggi bermakna daripada preeklampsia ringan dan tanpa preeklampsia. Sementara itu, kadar methemoglobin, tekanan sistolik dan diastolik pada preeklampsia ringan lebih tinggi bermakna daripada tanpa preeklampsia.

2. Korelasi antara tekanan sistolik dengan kadar methemoglobin pada kehamilan normal dan preeklampsia ringan adalah positif, sedangkan dengan preeklampsia berat berkorelasi negatif.
3. Korelasi antara tekanan diastolik dengan kadar methemoglobin pada kehamilan normal dan preeklampsia berat adalah negatif, sedangkan dengan preeklampsia ringan berkorelasi positif.
4. Aktivitas scavenging nitrit oksida oleh hemoglobin mempunyai korelasi terhadap perubahan tekanan darah pada kehamilan normal dan preeklampsia.

Ucapan terima kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Pemerintah Kabupaten Banjar dan RSUD Ratu Zalecha Martapura yang telah memberikan bantuan dana penelitian ini, melalui dana APBD 2004.

Daftar Pustaka

1. Wang X, Tanus-Santos JE, Reiter CD, Dejam A, Shiva S, Smith RD, et al, 2004. *Biological activity of nitric oxide in the plasmatic compartment*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 101(31):11477-82.
2. Ledingham MA, Thomson AJ, Young A, Macara RM, Greer IA, Norman JE, 2001. *Changes in the expression of nitric oxide synthase in the human uterine cervix during pregnancy and parturition*. Mol. Hum. Reprod, 6(11):1041-8.
3. Toda N, Okamura T, 2003. *The pharmacology of nitric oxide in the peripheral nervous system of blood vessels*. Pharm. Rev, 55(2):271-324.
4. Khalil, Granger, 2002. *Vascular mechanisms of increased arterial pressure in preeclampsia: lessons from animal models*. Am. J. Physiol. Reg. Integ. Comp. Physiol, 283:29-45.
5. Ilhan N, Ilhan N, Simsek M, 2002. *The changes of trace elements, malondialdehyde levels and superoxide dismutase activities in pregnancy with or without preeclampsia*. Clin Biochem, 35:393-397.
6. Takacs P, SW Kauma, MM Sholley, SW Walsh, MJ Dinsmoor, K Green, 2000. *Increased circulating lipid peroxides in severe preeclampsia: activate NF-K β and upregulate ICAM-1 in vascular endothelial cells*. FASEB J, :1-10.
7. Sainz RM, Reiter RJ, Mayo JC, Cabrera J, Tan DX, Qi W, et al, 2000. *Changes in lipid peroxidation during pregnancy and after delivery in rats: effect of pinealectomy*. J Reprod Fertil, 119:143-149.
8. Hubel CA, 1999. *Oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia*. Proc Soc Exp Biol Med, 222: 222-235.
9. Roberts JM, Balk JL, Bodnar LM, Belizan JM, Bergel E, Martinez A, 2003. *Nutrient involvement in preeclampsia*. J Nutr, 133:1684-92.
10. Wahidah N, Malahayati N, Herlina, 2005. *Faktor-faktor yang mempengaruhi derajat preeklampsia di RSUD Ratu Zalecha*. Bionalitika. in press.
11. Choi JW, Im MW, Pal SH, 2002. *Nitric oxide production increases during normal pregnancy and decreases in preeclampsia*. Annals Clin Lab Sci, 32(3):257-263.
12. Kossenjans W, Eis A, Sahay R, Brockman D, Myatt L, 2000. *Role of peroxynitrite in altered fetal-placental vascular reactivity in diabetes or preeclampsia*. Am J Physiol. Heart Circ Physiol, 278:1311-1319.
13. Speakman ED, Boyd JC, Burns DE, 1995. *Measurement hemoglobin in neonatal samples containing fetal hemoglobin*. Clin. Chem, 41(3):458-61.
14. Oser BL. 1995. *Hawk's physiological chemistry*. Bombay: Tata McGraw-Hill Publishing Company.

15. Anumba DOC, Robson SC, Boys RJ, Ford GA, 1999. *Nitric oxide activity in the peripheral vasculature during normotensive and preeclamptic pregnancy.* Am. J. Physiol, 277:848-54.
16. Vladimirov Y, Borisenko G, Boriskina N, Kazarinov N, Osipov A, 2000. *NO-hemoglobin may be a light-sensitive source of nitric oxide both in solution and in red blood cells.* J. Photochem. Photobiol, 59:115-22.
17. Zenser TV, Lakshmi VM, Hsu FF, Davis BB, 2001. *Methemoglobin oxidation of N-acetylbenzidine to form a sulfinamide.* Drug Metab Dis, 29:401-406.
18. Lynch PLM, Bruns DE, Boyd JC, Savory J, 1998. *Chiron 800 system CO-oximeter module overestimates methemoglobin concentration in neonatal fetal samples containing fetal hemoglobin.* Clin Chem, 44:1569.
19. Liu X, Miller MJS, Joshi MS, Sadowska-Krowicka H, Clark DA, Lancaster JR, 1998. *Diffusion-limited reaction of free nitric oxide with erythrocytes.* J Biol. Chem, 273(10):18709-13.
20. Huang KT, Han TH, Hyduke DR, Vaughn MW, Herle HG, Hein TW, et al, 2001. *Modulation of nitric oxide bioavailability by erythrocytes.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 98(20):11771-6.
21. El-Salahy EM, Ahmed MI, El-Gharieb A, Tawfik H, 2001. *New scope in angiogenesis: Role of vascular endothelial growth factor (VEGF), NO, lipid peroxidation, and vitamin E in the pathophysiology of pre-eclampsia among Egyptian females.* Clin Biochem, 34:323-329.
22. Rodrigo R, Parra M, Bosco C, Fernandez V, Barja P, Guajardo J, et al. 2005. *Pathophysiological basis for the prophylaxis of preeclampsia through early supplementation with antioxidant vitamins.* Pharm Ther, in press.
23. Huang Z, Louderback JG, Goyal M, Azizi S F, King B, Kim-Shapiro DB, 2001. *Nitric oxide binding to oxygenated hemoglobin under physiological conditions.* Biochim. Biophys. Acta, 1568:252-60.