

**KADAR HOMOSISTEIN PADA
KEHAMILAN TRIMESTER II SEBAGAI PREDIKTOR
PREEKLAMPSIA**



SIGIT LAKSMANA

TESIS

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I
OBSTETRI GINEKOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2005

UPT-PUSTAK-UNDIP	
No. Daft:	49407/17/FC/4.
Tgl.	18-8-06

HALAMAN PENGESAHAN

Judul penelitian tesis : KADAR HOMOSISTEIN PADA KEHAMILAN
TRIMESTER II SEBAGAI PREDIKTOR PREEKLAMPSIA

Ruang lingkup : Obstetri Ginekologi

Pelaksana penelitian

Nama : Sigit Laksmna

NIP : -

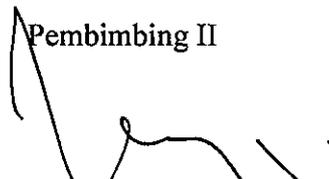
Pembimbing : dr. Hartono Hadisaputro, SpOG (K)
dr. Bambang Wibowo, SpOG (K)

Pembimbing I

dr. Hartono Hadisaputro, SpOG (K)

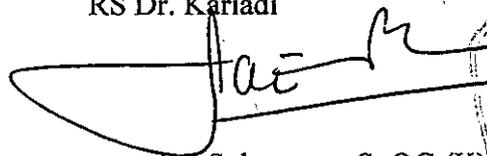
NIP : 140-067 785

Pembimbing II

dr. Bambang Wibowo, SpOG (K)

NIP : 140 221 586

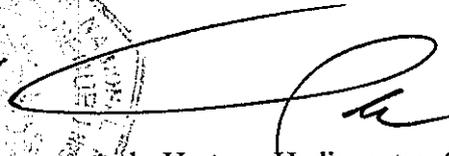
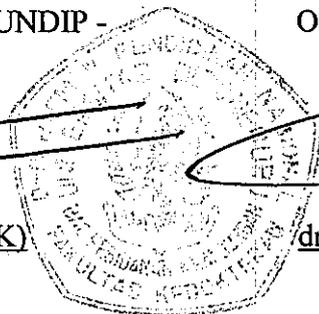
Ketua Bagian – SMF

Obstetri & Ginekologi FK UNDIP -
RS Dr. KariadiDr. Suharsono, SpOG (K)

NIP : 130 354 875

Ketua Program Studi PPDS I

Obstetri & Ginekologi FK UNDIP

dr. Hartono Hadisaputro, SpOG (K)

NIP : 140 067 785

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena berkat rahmat Nya saya dapat menyelesaikan tesis dengan judul “ Kadar Homosistein pada kehamilan trimester II sebagai prediktor preeklampsia”. Penelitian ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Spesialis I Obstetri dan Ginekologi pada Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang. Pada kesempatan ini saya mengucapkan terima kasih yang sebesar – besarnya kepada :

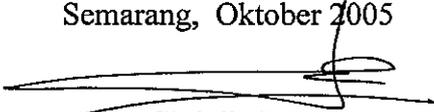
1. **dr. Suharsono, SpOG (K)** sebagai Ketua Bagian / SMF Obsgin FK UNDIP yang telah memberikan kesempatan pada saya dalam menyelesaikan penelitian dan pendidikan .
2. **dr. Hartono Hadisaputro, SpOG(K)** dan **dr. Bambang Wibowo, SpOG(K)** yang telah dengan sabar membimbing saya dalam menyelesaikan penulisan tesis.
3. **Prof. Dr. Noor Pramono, MMedSc, SpOG(K)** atas bimbingan dalam metodologi penelitian dan statistik pada penulisan tesis ini.
4. Para **Guru Besar** dan **Staf** di bagian Obstetri dan Ginekologi FK UNDIP / RS.Dr. Kariadi Semarang atas bimbingan selama pendidikan saya.
5. Para **Staf di Bagian Laboratorium RS. Dr. Kariadi Semarang** dan **Bagian Ilmu Gizi FK UNDIP** yang telah membantu kelancaran jalannya penelitian ini.
6. Kedua orang tua saya **Drs Agung Sembada (alm)** yang telah menanamkan jiwa dan semangatnya kepada saya dalam menyelesaikan penelitian dan pendidikan yang saya jalani.
7. Istri saya **dr. Alpha Insani Prestiasari** serta kedua anak saya **Rafli Alfanda Laksmna** dan **Reifa Sarita Ardiyasti Laksmna** yang telah memberikan dorongan dan semangat dengan cinta mereka kepada saya dalam menyelesaikan penelitian dan pendidikan ini.

8. Kedua mertua saya **dr. Bantuk Hadijanto Tarjoto SpOG (K)** yang telah memberikan bimbingan dan dorongan baik moral serta material dalam saya menjalani pendidikan ini.
9. **dr. Darminto** yang telah meluangkan waktu untuk saya dalam konsultasi statistik dalam penelitian ini.
10. **Kepala Puskesmas, Bidan dan karyawan / wati** Puskesmas Halmahera dan Puskesmas Ngesrep atas kerjasamanya selama penelitian ini.
11. Para sejawat **residen Obsgin , bidan dan perawat di RS Kariadi serta mahasiswa FK UNDIP** yang telah membantu saya selama melakukan penelitian ini
12. **Ibu – ibu** yang telah bersedia diambil sampel darah untuk keperluan data dalam penelitian ini.

Akhir kata dengan segala kerendahan hati saya berharap kritik dan saran pada tulisan ini karena saya sadar *tiada gading yang tak retak* , masih banyak kekurangan dalam penulisan tesis ini. Saya berharap semoga tulisan ini bermanfaat untuk pelayanan dan pengembangan ilmu Obstetri dan Ginekologi di masa yang akan datang.

Semoga tuhan Yang Maha Esa selalu memberikan rahmat dan karuniaNya kepada kita semua. Amin.

Semarang, Oktober 2005



Sigit Laksmna

ABSTRAK

Tujuan : Mengetahui kadar homosistein pada kehamilan trimester II yang tinggi berhubungan dengan terjadinya preeklampsia dan mengetahui apakah kadar homosistein yang tinggi pada trimester II dapat dijadikan sebagai prediktor terjadinya preeklampsia.

Waktu dan Tempat : Penelitian dilakukan mulai 1 Januari 2005 sampai dengan 31 Juli 2005 dan dilakukan di Klinik Kebidanan RS. Dr Kariadi Semarang, Puskesmas Ngesrep dan Halmahera Kodya Semarang.

Populasi : Ibu – ibu hamil usia kehamilan 20 – 28 minggu yang melakukan pemeriksaan kehamilan di Klinik Kebidanan RS. Dr Kariadi Semarang, Puskesmas Ngesrep dan Halmahera Kodya Semarang.

Rancangan penelitian : kohort prospektif dengan pembandingan internal.

Hasil : Didapatkan 64 sampel yang memenuhi kriteria. Selama perjalanan kehamilan dan persalinan enam sampel (9,5%) menjadi preeklampsia dan satu sampel dikeluarkan dari penelitian karena terjadi partus prematurus. Tidak ada perbedaan yang bermakna pada karakteristik kedua kelompok. Rerata kadar homosistein (tHcy) yang diukur pada usia kehamilan 20 – 28 minggu (trimester II) pada kelompok yang berkembang menjadi preeklampsia cenderung lebih tinggi dari pada kelompok normotensi yaitu $12,40 \pm 2,52$ dan $11,14 \pm 6,01$ dimana perbedaan ini tidak bermakna ($p = 0,61$). Rerata kadar homosistein (tHcy) pada saat terjadi preeklampsia lebih tinggi daripada kelompok normotensi yaitu $18,84 \pm 3,51$ $\mu\text{mol/L}$ dan $9,63 \pm 5,15$ $\mu\text{mol/L}$ ($p = 0,04$). Dengan *cut off point* pada kadar tHcy $9,7$ $\mu\text{mol/L}$ dapat dijadikan prediktor preeklampsia ($p : 0,017$, OR : 1,21 (95%CI 1,039 – 1,419)).

Simpulan : Kadar homosistein total (tHcy) plasma pada preeklampsia lebih tinggi dari pada normotensi. Kadar homosistein total (tHcy) plasma yang tinggi ($\geq 9,7$ $\mu\text{mol/L}$) pada kehamilan trimester II berhubungan dengan terjadinya preeklampsia dan dapat dijadikan prediktor preeklampsia.

Kata kunci : homosistein, preeklampsia, prediktor.

DAFTAR ISI

Halaman pengesahan	ii
Kata pengantar	iii
Abstrak.....	v
Daftar gambar dan grafik.....	viii
Daftar tabel.....	ix
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 LATAR BELAKANG MASALAH	1
1.2 PERMASALAHAN PENELITIAN	3
1.3 KEASLIAN PENELITIAN	4
1.4 TUJUAN PENELITIAN	6
1.5 MANFAAT PENELITIAN	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 PREEKLAMPSIA	7
2.1.1 Definisi Preeklampsia	7
2.1.2 Faktor Predisposisi	8
2.1.3 Etiologi dan Patogenesis	9
2.1.4 Perubahan perfusi ginjal pada preeklampsia / eklampsia.....	14
2.2 HOMOSISTEIN	15
2.2.1 Metabolisme homosistein	17
2.2.2 Etiologi hiperhomosisteinemia	20
2.2.3 Patogenesis.....	25

2.2.4 Homosistein dalam kehamilan.....	28
2.2.5 Kerangka teori.....	30
2.2.6 Kerangka Konsep.....	31
BAB 3 HIPOTESIS.....	32
BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN.....	33
4.1 Rancangan Penelitian.....	33
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	33
4.3 Populasi.....	33
4.4 Cara Pengambilan Sampel	33
4.5 Sample Penelitian	33
4.6 Besar Sampel	34
4.7 Cara Kerja	35
4.8 Variabel Penelitian.....	37
4.9 Batasan Operasional.....	37
4.10 Analisis Data.....	39
4.11 Etika Penelitian	40
4.12 Alur Penelitian	41
BAB 5 HASIL PENELITIAN	42
BAB 6 PEMBAHASAN.....	48
BAB 7 SIMPULAN DAN SARAN.....	54
DAFTAR PUSTAKA.....	55
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR DAN GRAFIK

Gambar 1. Dua jalur metabolisme homosistein	19
Gambar 2. Metabolisme homosistein	20
Gambar 3. Kadar serum homosistein pada kehamilan normotensi.....	29
Grafik 1. Kadar tHcy pada usia kehamilan 20 – 28 minggu (trimester II) pada kelompok preeklampsia dan normotensi	45
Grafik 2. Kadar tHcy pada saat terjadi preeklampsia dan tetap normotensi.....	45

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Penyebab Perubahan Homosistein Plasma (Hcy).....	24
Tabel 2. Karakteristik pada dua kelompok subyek penelitian	43
Tabel 3. Perbandingan kelompok preeklampsia dan normotensi dengan <i>cut off point</i> 9,7 μ mol/L (berdasarkan kurva ROC)	46

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG MASALAH

Preeklampsia dan eklampsia masih merupakan masalah dalam pelayanan obstetri di Indonesia dan merupakan salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas ibu dan janin disamping perdarahan dan infeksi^{1,2}. Preeklampsia terjadi sekitar 3-7 % dari seluruh kehamilan, dengan angka yang bervariasi pada masing-masing negara¹. Di negara yang sedang berkembang seperti Indonesia angka kejadian preeklampsia berkisar 7-10 % dari seluruh kehamilan². Pada penelitian di RS Dr. Kariadi tahun 1993 didapatkan angka kejadian preeklampsia 2,45 % dan eklampsia 0,91 %, tahun 1996 preeklampsia dan eklampsia masih merupakan penyebab utama kematian maternal (40%) diikuti infeksi (26,6%) dan perdarahan (24,4%), tahun 1997-1999 didapatkan angka kejadian preeklampsia 7,6% dan eklampsia 0,15%, dan pada tahun 1999-2000, preeklampsia dan eklampsia merupakan penyebab utama kematian maternal (52,9%) diikuti perdarahan (26,5%) dan infeksi (14,7%), sehingga dari data - data tersebut menunjukkan bahwa kejadian preeklampsia semakin meningkat dari tahun ke tahun³⁻⁵.

Penyebab preeklampsia sampai saat ini masih belum diketahui secara pasti sehingga penyakit ini oleh Zweifel (1916) disebut "the disease of theories"¹. Berbagai penelitian masih terus dilakukan untuk mengetahui patogenesis

preeklampsia, dengan hasil berbagai temuan baru yang terungkap. Hipotesis yang saat ini tengah berkembang pesat adalah teori mengenai disfungsi sel endotel maternal sebagai kunci kejadian yang berakibat pada manifestasi klinis preeklampsia. Temuan ini banyak didukung oleh berbagai temuan perubahan morfologis dan biokimia endotel. Terganggunya fungsi sel endotel dapat mengaktifkan kaskade pembekuan, meningkatkan reaktifitas vaskuler dan menyebabkan hilangnya integritas vaskuler^{1,6}.

Terdapat berbagai mekanisme terjadinya kerusakan vaskuler, salah satunya disebabkan karena kelainan metabolisme metionin, yang berakibat terjadinya peningkatan kadar homosistein yang berefek toksik pada endotel vaskuler. Peningkatan kadar total *homocystein* (tHcy) plasma merupakan faktor risiko penyakit vaskuler baik koroner, serebral maupun perifer⁸. Homosistein merupakan senyawa antara yang dihasilkan pada metabolisme metionin yang terdapat dalam beberapa bentuk pada plasma⁹.

Hiperhomosisteinemia dapat ditemukan sebagai penyebab dari aterosklerosis dini. Pada beberapa penelitian dilaporkan adanya hubungan antara hiperhomosisteinemia dengan penyakit vaskuler. Secara patologis hal ini merupakan faktor resiko terjadinya trombosis vena, peningkatan kejadian stroke, penyakit jantung koroner dan penyakit vaskuler perifer. Disebutkan juga homosistein bersifat toksik terhadap endotel vaskuler, meningkatkan oksidasi LDL dan menyebabkan plak aterosklerotik. Hiperhomosisteinemia juga dapat mempengaruhi interaksi platelet dengan endotel dengan mengurangi produksi dari *nitric oxide* (NO) dan

prostasiklin dan mengganggu keseimbangan komponen vasokonstriktor. Hiperhomosisteinemia juga dapat menyebabkan peningkatan aktivitas prokoagulan dengan peningkatan aktifitas faktor V dan mengurangi aktifitas trombomodulin. Didapatkan pengaruh negatif pada vaskuler yang disebabkan karena gangguan pada siklus metionin yang ditunjukkan dengan peningkatan kadar homosistein serum yang menyebabkan gangguan vaskular selama kehamilan seperti preeklampsia , gangguan uteroplasenter (*IUGR*, solusio plasenta atau infark plasenta), abortus spontan, dan *neural tube defects* ¹³.

Beberapa penelitian menyatakan bahwa kadar homosistein yang tinggi pada kehamilan trimester II berhubungan dengan terjadinya preeklampsia, tetapi ada juga penelitian yang menyatakan sebaliknya yaitu tidak ada hubungan antara kadar homosistein yang tinggi dengan preeklampsia ¹⁴⁻¹⁸. Di Indonesia penelitian untuk menilai hubungan antara kadar homosistein dengan kejadian preeklampsia belum pernah dilakukan. Pada penelitian ini digunakan metode penelitian dengan kohort prospektif dengan pembanding internal yang sebelumnya belum pernah dilakukan.

1.2 PERMASALAHAN PENELITIAN

Beberapa peneliti menyatakan bahwa kadar homosistein yang tinggi pada trimester II berhubungan dengan kejadian preeklampsia, sehingga timbul suatu permasalahan :

- Apakah kadar homosistein yang tinggi pada kehamilan trimester II berhubungan dengan terjadinya preeklampsia ?

- Apakah kadar homosistein yang tinggi pada trimester II dapat dijadikan prediktor terjadinya preeklampsia ?

1.3 KEASLIAN PENELITIAN

Telah banyak dilaporkan penelitian mengenai kadar homosistein pada kehamilan dan berhubungan dengan kejadian preeklampsia diantaranya adalah :

- Di Dublin Irlandia pada tahun 2001 diteliti peningkatan kadar total homosistein (tHcy) plasma pada kehamilan trimester II sebagai salah satu faktor terjadinya preeklampsia berat pada 56 pasien dengan metode *case control* dan dinyatakan bahwa kadar homosistein yang tinggi ($9,8 \mu\text{mol/L} \pm 3,3 \mu\text{mol/L}$) pada trimester II meningkatkan terjadinya preeklampsia berat dibandingkan dengan kontrol ($8,4 \mu\text{mol/L} \pm 1,9 \mu\text{mol/L}$) dan kadar tHcy $> 10 \mu\text{mol/L}$ pada trimester II secara signifikan meningkatkan kejadian preeklampsia 2,84 kali ¹⁴.
- Di *Swedish Medical Center* tahun 2004 diteliti kadar total homosistein (tHcy) plasma yang meningkat pada kehamilan trimester II dan kejadian preeklampsia pada 52 pasien dengan preeklampsia dan 56 pasien normotensi dengan metode *case control* dan dinyatakan bahwa peningkatan kadar tHcy pada trimester II menyebabkan peningkatan terjadinya preeklampsia 3,2 kali ¹⁵.
- Di Ontario Kanada tahun 1998 diteliti perubahan kadar total homosistein (tHcy) plasma selama kehamilan normal 155 wanita hamil normotensi

trimester I,II dan III dengan metode *cross sectional* dan menyatakan bahwa terjadi penurunan kadar tHcy selama kehamilan khususnya pada usia kehamilan 20-28 minggu yaitu 5,5 $\mu\text{mol/L}$ ¹⁶.

- Di Afrika tahun 1999 diteliti kadar total homosistein (tHcy) plasma pada wanita hamil dengan eklampsia dan preeklampsia tahun 1999 dan menyatakan bahwa kadar tHcy pada wanita hamil dengan eklampsia dan preeklampsia (12,54 atau 12,77 $\mu\text{mol/L}$) lebih tinggi dari pada normotensi (9,9 $\mu\text{mol/L}$, $p < 0.001$), dengan resiko terjadinya preeklampsia dan eklampsia 6 kali pada kadar total serum homosistein yang tinggi (median 13 $\mu\text{mol / L}$) ¹⁷.
- Di *University of Viena Medical School* Austria pada tahun 2000 diteliti kadar total homosistein (tHcy) plasma wanita dengan preeklampsia pada 45 wanita hamil dengan preeklampsia dan 45 wanita hamil normotensi dengan metode *cross sectional* dan dinyatakan bahwa tidak ada hubungan antara kadar tHcy yang meningkat dengan kejadian preeklampsia ¹⁸.

Pada penelitian ini peneliti berusaha membuktikan adanya hubungan kadar homosistein yang tinggi pada trimester II dengan kejadian preeklampsia dan kadar homosistein yang tinggi pada trimester II dapat dijadikan prediktor terjadinya preeklampsia dengan menggunakan metode kohort prospektif dengan pembandingan internal.

1.4 TUJUAN PENELITIAN

- Mengetahui kadar homosistein pada kehamilan trimester II yang tinggi berhubungan dengan terjadinya preeklampsia.
- Mengetahui apakah kadar homosistein yang tinggi pada trimester II dapat dijadikan sebagai prediktor terjadinya preeklampsia.

1.5 MANFAAT PENELITIAN

Penelitian ini berupaya dapat memberikan gambaran kadar homosistein pada ibu hamil trimester II dan dapat dijadikan sebagai salah satu faktor prediktor terjadinya preeklampsia.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 PREEKLAMPSIA

2.1.1 Definisi Preeklampsia

Preeklampsia merupakan sindroma penurunan perfusi organ akibat vasospasme dan aktivasi endotel pada kehamilan. Klasifikasi gangguan hipertensi pada kehamilan yang direkomendasikan oleh *National Institutes of Health (NIH) Working Group on Blood Pressure in Pregnancy* menyatakan kriteria diagnosis preeklampsia adalah keadaan hipertensi dalam kehamilan yang didiagnosis setelah umur kehamilan 20 minggu dan disertai proteinuria. Disebut hipertensi yaitu bila tekanan darah diastolik ≥ 90 mmHg atau tekanan sistolik ≥ 140 mmHg . Disebut dengan proteinuria bila terdapat protein dalam urin dengan kadar ≥ 300 mg dalam 24 jam, bila terdapat protein dalam urine dengan kadar ≥ 300 mg per liter, atau dengan pemeriksaan kualitatif 1+ pada pengambilan urine secara acak¹.

Edema sekarang tidak lagi menjadi tanda yang sah untuk menegakkan preeklampsia, oleh karena edema biasa dijumpai pada wanita hamil. Robertson (1971) berpendapat bahwa 1/3 wanita hamil timbul edema pada usia kehamilan 38 minggu dan tidak ada korelasi statistik antara edema dan hipertensi^{1,7}.

Superimposed preeklampsia adalah preeklampsia yang terjadi pada wanita yang menderita penyakit hipertensi vaskuler kronis atau penyakit ginjal. Penyakit hipertensi kronis adalah penyakit hipertensi yang menetap dengan penyebab apapun

dan sudah diderita sebelum kehamilan 20 minggu atau hipertensi yang menetap selama 6 minggu postpartum. Preeklampsia dibagi menjadi preeklampsia berat dan preeklampsia ringan. Diagnosis preeklampsia berat ditegakkan pada kasus preeklampsia dengan salah satu gejala berikut :

- Tekanan darah sistolik ≥ 160 mmHg dan tekanan darah diastolik ≥ 110 mmHg.
- Proteinuria ≥ 5 gr/24 jam atau $\geq 4+$.
- Oliguria, yaitu produksi urin < 500 ml per 24 jam yang disertai kenaikan kadar kreatinin plasma.
- Gangguan visus dan serebral
- Nyeri epigastrium atau nyeri kuadran kanan atas abdomen.
- Edema paru-paru dan sianosis.
- Pertumbuhan janin terhambat.
- Adanya sindroma HELLP (*Hemolysis; Elevated liver enzymes; Low platelet*).

Disebut preeklampsia ringan bila tekanan darah sistolik ≥ 140 mmHg atau tekanan darah diastolik ≥ 90 mmHg tanpa salah satu gejala atau tanda di atas^{1,10}.

2.1.2 Faktor predisposisi.

Wanita hamil cenderung dan mudah mengalami preeklampsia bila mempunyai faktor-faktor predisposisi sebagai berikut^{1,6,7}:

1. Primigravida
2. Hiperplasentosis : Mola hidatidosa, kehamilan ganda, diabetes melitus, hidrops fetalis, bayi besar.

3. Umur yang ekstrim.
4. Riwayat preeklampsia-eklampsia pada kehamilan sebelumnya.
5. Riwayat dalam keluarga pernah preeklampsia / eklampsia.
6. Penyakit ginjal dan hipertensi yang sudah ada sebelum kehamilan.
7. Obesitas.

2.1.3 Etiologi dan patogenesis

Pada preeklampsia patogenesis dan patofisiologi serta perubahan-perubahan patologi fungsi organ-organ telah banyak dibicarakan, namun belum ada yang memuaskan. Oleh karena banyaknya teori yang diajukan untuk mencari etiologi dan patofisiologi maka oleh Chesley (1978) penyakit ini disebut dengan *the disease of theories*¹.

Patogenesis yang menerangkan terjadinya hipertensi dalam kehamilan antara lain:

2.1.3.1 Iskemia plasenta

Berbagai bukti eksperimental dari pemeriksaan histopatologis menunjukkan bahwa menurunnya perfusi tropoblastik merupakan perubahan patofisiologi yang paling dini terjadi dan konsisten pada preeklampsia. Bahkan timbulnya preeklampsia pada kehamilan abdominal dan mola menunjukkan bahwa faktor uterus dan janin tidak dibutuhkan dalam mekanisme tersebut. Sejak dini penderita memperlihatkan perubahan morfologis di uterus sebagai berikut^{1,21} :

1. Arteri spiralis yang menjamin perfusi ruang intervillous di plasenta gagal mengalami perubahan morfologi yang layaknya terjadi dalam kehamilan normal seperti meningkatnya diameter vaskuler sekurang - kurangnya 4 kali

serta menghilangnya komponen muskuler dan elastik vaskuler. Pada kehamilan normal perubahan morfologi vaskuler tersebut meluas melampaui jaringan desidua dan memasuki lapisan miometrium.

2. Vaskuler mengalami oklusi fibrinoid dan invasi *foam cell*. Gambaran histopatologik ini amat mirip dengan yang nampak pada proses penolakan allograft yang disebut atherosclerosis. Atherosclerosis yang meliputi 1/10 daerah implantasi plasenta didapatkan pada akhir trimester I kehamilan nullipara. Perubahan di atas menyebabkan terjadinya penurunan perfusi trofoblastik.

Pada preeklampsia proses plasentasi tersebut tidak berjalan sebagaimana mestinya oleh karena disebabkan 2 hal yaitu pertama, tidak semua arteri spiralis mengalami invasi oleh sel-sel trofoblas. Kedua, pada arteri spiralis yang mengalami invasi, terjadi tahap pertama invasi sel trofoblas secara normal tetapi invasi tahap ke dua tidak berlangsung sehingga bagian arteri spiralis yang berada dalam miometrium tetap mempunyai dinding muskulo-elastik yang reaktif yang berarti masih terdapat resistensi vaskuler. Disamping itu juga terjadi atherosclerosis akut pada arteri spiralis yang dapat menyebabkan lumen arteri bertambah kecil atau bahkan mengalami obliterasi^{1,19,21}.

Teori tentang bagaimana sel-sel trofoblas gagal mengadakan invasi arteri spiralis sampai saat ini belum diketahui dengan jelas, walaupun akhir-akhir ini faktor imunologi diduga memegang peranan penting²¹. Selanjutnya iskemia plasenta yang terjadi pada preeklampsia menyebabkan transport elektron dalam mitokondria

berkurang, sehingga kebocoran elektron dari rantai respirasi meningkat, bereaksi dengan sisa molekul oksigen membentuk radikal bebas²².

2.1.3.2 Faktor genetika

Dilaporkan bahwa peningkatan angka kejadian preeklampsia pada wanita yang dilahirkan pada ibu yang menderita preeklampsia. Preeklampsia dan eklampsia mempunyai kecenderungan menurun (herediter). Banyak pendapat yang mengemukakan mekanisme terjadinya preeklampsia berdasarkan genetik. Dilaporkan pula bahwa adanya hubungan antara histokompatibilitas *Human Leucocyte Antigen* (HLA-DR4) dan *protein-uric hypertension*. Adanya respon humoral ibu secara langsung melawan imunoglobulin anti-HLA-DR janin yang dapat mempengaruhi berkembangnya hipertensi dalam kehamilan. Kemungkinan kecenderungan preeklampsia tergantung pada satu gen resesif. Penelitian yang terakhir menghubungkan antara kejadian preeklampsia dengan Trisomi 13. Walaupun faktor genetik nampaknya berperan pada preeklampsia tetapi belum dapat diterangkan secara jelas manifestasinya pada penyakit ini^{1,19,21}.

2.1.3.3 Teori renin – angiotensin – aldosteron

Sistem renin – angiotensin – aldosteron (SRAA) mempunyai peran penting dalam pengendalian tonus vaskuler dan tekanan darah. Pada sistem ini angiotensin disekresi oleh hati dan dibantu oleh renin untuk memproduksi angiotensin I. Angiotensin I inaktif kemudian dikonversi menjadi angiotensin II yang aktif secara biologis oleh *angiotensin converting enzyme* yang terikat pada endothel vaskuler. Angiotensin II yang beredar dalam darah akan berinteraksi dengan reseptor spesifik untuk

merangsang kontraksi otot polos, menstimulir produksi aldosteron dan menyebabkan retensi natrium, mempercepat pelepasan norepinefrin dan menghambat pengambilan kembali norepinefrin oleh nervus terminalis simpatis, serta menambah reaktivitas otot polos vaskuler terhadap norepinefrin¹.

2.1.3.4 Faktor Immunologi

Konsep ini menjelaskan peran antibodi IgG dan IgM dalam kerusakan sel endotel. Ekspresi berbagai macam antigen pada sel endotel vaskuler, mengakibatkan jaringan tersebut menjadi target imunologik yang penting. Ikatan antibodi IgG dan IgM dengan sel endotel vaskuler yang terbentuk meningkatkan aktifitas destruksi jaringan itu sendiri. Mekanisme tersebut di atas tampak dalam studi invitro yang menggunakan ELISA dan pengecatan immunoflourescent dimana ikatan kompleks antibodi IgG, IgM dan sel endotel vena umbilikalis janin yang terbentuk dalam *primary culture* lebih tinggi pada serum penderita preeklampsia dibandingkan serum kehamilan normal (kontrol). Kemungkinan adanya peran maladaptasi pada patofisiologi preeklampsia. Risiko terjadinya hipertensi dalam kehamilan kemungkinan besar disebabkan karena perubahan keadaan sekitarnya dimana tidak terjadi pembentukan *blocking antibody* terhadap antigen yang dapat merusak plasenta dan mengakibatkan timbulnya iskemia. Iskemia yang terjadi selanjutnya berhubungan dengan teori patogenesis yang lain, yaitu teori disfungsi endotel dan proses pembentukan radikal bebas^{20,21}.

2.1.3.5 Teori koagulasi intravaskuler

Aktivasi sistim koagulasi menyebabkan koagulasi intravaskuler menyeluruh dengan agregasi dan destruksi trombosit, menurunnya kadar prokoagulan, adanya produk degradasi fibrin intravaskuler dan kerusakan *end-organ* dari mikrotrombus²².

2.1.3.6 Disfungsi endotel

Teori mengenai patogenesis preeklampsia yang relatif baru yaitu teori mengenai disfungsi endotel. Endotel diketahui berfungsi memelihara integritas dan patensi kompartemen vaskuler, memelihara fluiditas darah, mengatur trombosis dan mencegah koagulasi intravaskuler, regulasi inflamasi, regulasi pertumbuhan sel, oksidasi LDL, dan menjaga tonus vaskuler serta mengatur permeabilitas dinding pembuluh darah terhadap berbagai sel dan molekul⁶. Endotel menghasilkan zat-zat penting yang bersifat relaksasi pembuluh darah, seperti *nitric oxide* (NO) dan prostasiklin (PGI₂). Disfungsi endotel adalah suatu keadaan dimana didapatkan adanya ketidakseimbangan antara faktor vasodilatasi dan vasokonstriksi. Sel endotel yang sehat sanggup untuk memelihara integritas vaskuler, mencegah adhesi platelet dan mempengaruhi tonus otot polos vaskuler. Adanya kerusakan endotel akan mengakibatkan ketidakmampuan menjaga fungsi tersebut sehingga berakibat pada meningkatnya permeabilitas vaskuler, trombosis platelet dan meningkatnya tonus vaskuler. Ketiga hal yang mencerminkan adanya disfungsi endotel tersebut ternyata dapat ditemukan pada preeklampsia^{1,7}.

Banyak bukti yang menunjukkan adanya disfungsi endotel pada preeklampsia. Bukti adanya kerusakan sel-sel endotel dibuktikan dengan berkurangnya substansi

tertentu yang disekresikan oleh plasenta yaitu faktor-faktor vasodilator seperti NO, PGI₂, dan *endotel derived relaxing factor* (EDRF). Sedangkan plasenta memproduksi faktor-faktor vasokonstriksi seperti endotelin, tromboksan (TXA₂), angiotensin II dan *endotel derived contracting factor* (EDCF)^{6,12}. Peroksidasi lipid juga mengakibatkan terjadinya disfungsi endotel, sehingga tingginya kadar *Malondialdehyde* sebagai hasil akhir dari peroksidasi lipid dalam darah penderita preeklampsia dibandingkan dengan kehamilan normal merupakan petunjuk terjadinya kerusakan endotel. Berkurangnya zat-zat yang bersifat vasodilator dan sebaliknya meningkatnya zat-zat yang mempunyai sifat vasokonstriksi mengakibatkan terjadinya hipertensi yang merupakan manifestasi utama preeklampsia. Teori ini berkaitan erat dengan faktor imunologi dimana hipotesis yang ada yaitu bahwa gangguan imunologis menyebabkan implantasi plasenta yang abnormal yang menyebabkan turunnnya perfusi plasenta. Perfusi yang abnormal tersebut menstimulasi produksi zat-zat yang mengaktifasi atau merusak sel-sel endotel¹². Teori disfungsi endotel juga berkaitan erat dengan teori stress oksidatif yang akhir-akhir ini diduga merupakan salah satu mekanisme penting penyebab terjadinya disfungsi endotel.

2.1.4 Perubahan perfusi ginjal pada preeklampsia / eklampsia

Sebagai akibat perubahan pada sistem hemodinamik, maka akan terjadi penurunan aliran darah ke ginjal. Demikian pula kecepatan filtrasi glomerulus berkurang sampai 50%. Penurunan aliran darah ke ginjal menurut beberapa penulis sekitar 20 % dibandingkan dengan kehamilan normal²¹.

Pada preeklampsia akan terjadi perubahan pada glomerulus dan tubulus ginjal, baik secara histopatologis maupun fisiologis. Kelainan ginjal ini merupakan karakteristik pada preeklampsia dan disebut sebagai *glomerular endotheliosis*. Dimana glomerulus akan membesar dan membengkak tapi tidak hiperseluler. Primer sebagai hipertrofi intrakapiler sel (terutama endotel, dengan mesangial normal), dimana kerusakan pada lumen kapiler yang akan menyebabkan penurunan aliran darah pada glomerulus^{22,23}. Perubahan ini telah terjadi sejak dini, sebelum gejala – gejala klinik menjadi jelas^{19,21}. Perubahan pada glomerulus akan menyebabkan kecepatan filtrasinya berkurang, sedangkan perubahan pada tubulus ginjal menyebabkan fungsi reabsorpsi dan sekresi terganggu.

2.2 HOMOSISTEIN

Penyakit kardiovaskuler, terutama infark miokard dan stroke telah membunuh tidak kurang 12 juta orang setiap tahunnya. Diramalkan untuk masa yang akan datang menyebabkan kematian nomor satu di dunia. Berbagai faktor risiko untuk terjadinya penyakit kardiovaskuler ini terus diteliti oleh para ahli agar dapat menekan angka kematian¹³. Berbagai mekanisme untuk terjadinya kerusakan vaskuler, salah satunya disebabkan karena kelainan metabolisme metionin, sehingga menimbulkan peningkatan konsentrasi homosistein darah yang berefek toksik pada endotel vaskuler. Peningkatan plasma total *homocystein* (tHcy) merupakan faktor risiko penyakit vaskuler baik koroner, serebral maupun perifer⁸.

Homocysteine theory of atherosclerosis merupakan istilah yang pertama kali dikemukakan oleh McCully tahun 1969 . Menurut pengamatannya pada pasien dengan *inborn metabolic error homocysteinuria* terjadi peningkatan konsentrasi homosistein dalam plasma dan urin sehingga menimbulkan *premature atherosclerosis* pada anak-anak dan dewasa muda. Kemudian dikemukakan adanya kelainan metabolisme homosistein pada penyakit arteri koroner¹⁹ .

Penelitian yang membandingkan pasien dengan penyakit *vascular premature* usia < 55 tahun terhadap orang normal dengan pemberian *methionin loading test* (MLT) ternyata *cerebro vascular disease (CVD)* 42%, *coronary arterial disease (CAD)* 30% dan *peripheral vascular disease (PVD)* 28% dengan Odds ratio 3,3:1 untuk hiperhomosisteinemia (HHC), lebih besar dari merokok dan kolesterol yang tinggi, sedangkan pada kontrol tidak ada kelainan²⁰ .

U.S Physicians Healt Study (1992) melaporkan bahwa konsentrasi homosistein yang tinggi merupakan faktor risiko untuk infark miokard⁵. Ditunjukkan pula adanya hubungan antara tingginya kadar homosistein dengan banyaknya penebalan dinding arteri koroner²¹ .

Peningkatan total homosistein merupakan faktor risiko independen untuk penyakit kardiovaskuler dengan *odds ratio* (OR) setiap peningkatan 5 $\mu\text{mol/L}$ total homosistein adalah 1,6 pada pria dan 1,8 pada wanita²². Suatu meta analisis (1999) menyatakan bahwa peningkatan 5 $\mu\text{mol/L}$ homosistein sebanding dengan peningkatan kolesterol sebanyak 20 mg/dl⁸. Hampir semua *retrospective case-*

control studies, *prospective studies* dan beberapa *meta analysis* menyokong konsep bahwa hiperhomosisteinemia merupakan faktor risiko independent untuk terjadinya CVD, CAD dan PVD²³.

2.2.1 Metabolisme homosistein

Homosistein merupakan senyawa antara yang dihasilkan pada metabolisme metionin yang terdapat dalam beberapa bentuk pada plasma. Metionin ini merupakan asam amino esensial yang mengandung sulfur yang didapat dari makanan (diet protein). Konsentrasi homosistein plasma normal adalah 5 – 15 $\mu\text{mol/L}$, tetapi nilai yang dikehendaki adalah $<10 \mu\text{mol/L}$. Apabila terjadi kelainan metabolisme dan asupan metionin yang tinggi dalam waktu yang lama akan meningkatkan kadar tHcy dalam plasma 15 - 25 $\mu\text{mol/L}$ bahkan dapat mencapai 200 $\mu\text{mol/L}$ ⁹.

Plasma manusia mengandung bentuk homosistein tereduksi dan teroksidasi. Bentuk teroksidasi disebut homosistein sebagai disulfida sedangkan bentuk tereduksi disebut homosistin. Bentuk teroksidasi (98-99%) dan bentuk tereduksi (1%). Adanya kelebihan asupan metionin akan dikonversikan melalui *transmetilasi* enzimatik menjadi homosistein. Homosistein dikonservasikan menjadi sistationin melalui jalur *transsulfurasi*. Kemudian sistationin dikonservasikan menjadi sistein yang akhirnya didegradasi dan dieksresikan dalam urine. Homosistein juga dapat mengalami siklus balik menjadi metionin melalui 2 jalur remetilasi. Jalur lain bersifat tidak tergantung pada vitamin B₁₂ dan asam folat, tetapi menggunakan betaine sebagai kofaktor. Adanya mutasi gen pada beberapa enzim, gangguan atau defisiensi substrak maupun

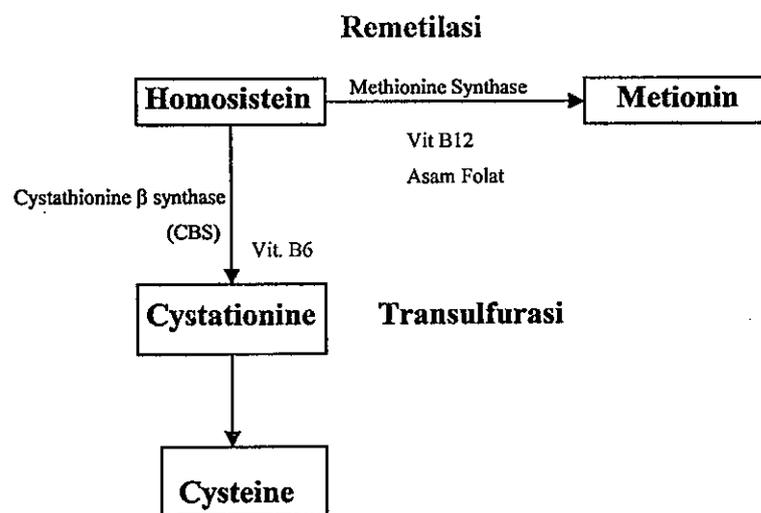
kofaktor yang terlibat dalam metabolisme homosistein ini akan menyebabkan terjadinya hiperhomosisteinemia (gambar 1 dan 2)⁸.

S-adenosilmetionin (SAM) "teraktivasi" adalah donor metil terpenting dalam sejumlah besar reaksi biologis (DNA, protein, neurotransmitter, hormon, fosfolipid). Dengan memperoleh gugus metil dari 5-metiltetrahidrofolat (5-metil-THF), homosistein mengalami remetilasi menjadi metionin. Reaksi ini dikatalisasi oleh enzim metionin sintase, dan vitamin B₁₂ diperlukan sebagai kofaktor. Alternatif lain, homosistein melalui kondensasi dengan serin dan melalui sistationin, mengalami pemecahan ireversibel menjadi sistein dan akan dipecah lagi menjadi glutation (transulfurasi). Aktivitas kedua enzim yang terlibat dalam jalur metabolik ini, yaitu sistationin beta-sintase (CBS) dan gamma-sistationase, bergantung pada kofaktor vitamin B₆²⁴.

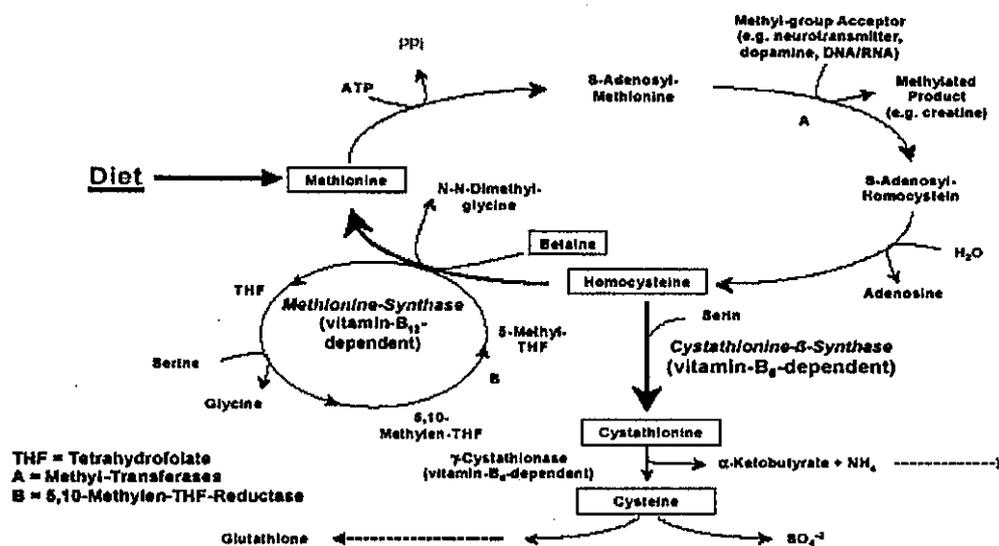
Disamping fungsinya sebagai kofaktor untuk enzim-enzim yang terlibat dalam metabolisme homosistein, vitamin B₁₂, B₆, dan asam folat juga memiliki fungsi-fungsi independen penting lain²⁵. Defisiensi asam folat dan vitamin B₆ merupakan faktor resiko independen untuk penyakit kardiovaskuler. Disamping terlibat dalam timbulnya hiperhomosisteinemia, defisiensi folat dihubungkan dengan hipometilasi, gangguan pembentukan DNA atau gangguan proliferasi sel yang disertai meningkatnya resiko keganasan²⁶. Karena vitamin B₁₂ bertindak sebagai kofaktor untuk metionin sintase dan terlibat dalam metabolisme folat, defisiensi vitamin B₁₂ dapat, bahkan dengan asupan folat yang adekuat, menyebabkan menurunnya remetilasi maupun hipometilasi. Hal ini akan menyebabkan peningkatan kadar

homosistein plasma dan defisiensi folat fungsional walaupun (tampaknya) konsentrasi asam folat plasma adekuat (karena folat “terjebak” sebagai metiltetrahidrofolat)²⁷.

Defisiensi asam folat, vitamin B₁₂, dan vitamin B₆ serta menurunnya aktivitas enzim menghambat pemecahan homosistein, sehingga meningkatkan konsentrasi homosistein intrasel. Karena bersifat sitotoksik, homosistein semakin banyak dikirim dari sel sehingga terdeteksi dalam plasma²⁸.



Gambar 1. Dua jalur metabolisme homosistein



Gambar 2. Metabolisme homosistein (THF = tetrahidrofolat; A = metil transferase, B = 5, 10-metilentetrahidrofolat reduktase)

2.2.2 Etiologi hiperhomosisteinemia

2.2.2.1 Usia dan jenis kelamin

Homosistein meningkat sesuai usia, dan pria muda normalnya memiliki kadar yang lebih tinggi daripada wanita pada usia yang sama. Pada orang-orang berusia sekitar 40 tahun, perbedaan jenis kelamin kurang lebih 2 $\mu\text{mol/L}$ dan dapat dijelaskan dengan adanya efek estrogen pada wanita karena estrogen menghilang dengan segera setelah menopause. Peningkatan homosistein yang berhubungan dengan usia dapat dijelaskan, setidaknya sebagian, dengan adanya penurunan fisiologis dalam fungsi ginjal seiring dengan bertambahnya usia. Kadar homosistein plasma menunjukkan peningkatan linier sampai usia 60-65 tahun tetapi kemudian meningkat jauh lebih cepat setelahnya, sekitar 10 persen atau 1 $\mu\text{mol/L}$ tiap dekadenya²⁹.

2.2.2.2 Faktor genetik

Enzim 5, 10-metilentetrahidrofolat reduktase (MTHFR) menyebabkan reduksi ireversibel 5,10-metilen-THF menjadi 5-metil-THF. Sekitar 5 sampai 15 persen dari populasi umum di Jerman, Austria, dan Swiss adalah karier homozigot dari varian MTHFR yang termolabil yang disebabkan oleh *point mutation* pada lokasi nukleotida 677 (MTHFR 677C→T)²⁵. Aktivitas MTHFR mengalami penurunan sekitar 70 % pada individu-individu yang terpengaruh. Karena itu karier mutasi ini sangat sensitif terhadap defisiensi folat, dan mengalami peningkatan homosistein plasma sekitar 25 persen (atau sekitar 2,6 $\mu\text{mol/L}$). Meta-analisis baru-baru ini yang mengikutsertakan sejumlah besar kasus menemukan peningkatan resiko 16 sampai 23 persen untuk homozigot, yang dijelaskan dengan adanya peningkatan homosistein plasma atau defisiensi folat³¹. Sekitar 1 persen dari populasi umum adalah heterozigot untuk mutasi gen CBS (*Cystathionine beta-synthase*). Karier dari mutasi ini juga menunjukkan peningkatan konsentrasi homosistein setelah *loading* metionin oral dan juga memiliki resiko penyakit vaskuler yang meningkat. Mutasi lain yang mungkin memiliki dampak pada metabolisme homosistein (metionin sintase, metionin sintase reduktase, dan lain-lain) sangat jarang dijumpai, dan arti klinisnya telah diselidiki³².

2.2.2.3 Defisiensi vitamin

Defisiensi vitamin sejauh ini merupakan penyebab utama hiperhomosisteinemia, dan hal ini mungkin disebabkan oleh asupan inadekuat, berkurangnya absorpsi dari traktus gastrointestinal, meningkatnya konsumsi, dan interaksi (obat). Individu-individu yang tidak mengkonsumsi diet seimbang (misalnya vegetarian), orang-orang

lanjut usia, wanita hamil, pasien-pasien dengan penyakit ginjal, malabsorpsi (penyakit intestinal inflamatorik) atau penyakit keganasan memiliki resiko mengalami defisiensi vitamin yang memiliki makna klinis. Disamping itu, penyalahgunaan alkohol dan pemakaian obat-obatan tertentu dapat menyebabkan defisiensi vitamin. Defisiensi folat merupakan defisiensi vitamin yang paling sering terjadi di Eropa, sebagian karena kurangnya buah-buahan dan sayuran segar. Sumber-sumber folat dalam diet yang baik termasuk sayuran hijau, sereal, buah-buahan, *yeast*, dan hati (dalam jumlah terbatas). Namun, sampai 90 % folat dapat hilang dalam pemrosesan sereal dan makanan³³. Folat juga hilang karena asam folat sensitif terhadap panas, penyimpanan, dan cahaya. Sejumlah asosiasi profesional menyarankan lima porsi buah dan sayuran tiap harinya (600-700 µg), tetapi kebanyakan orang tidak mengalami kesulitan memenuhi anjuran ini. Rata-rata asupan harian sekitar 400 µg folat diet ekuivalen (DFE) akan mengoptimalkan semua parameter metabolik yang bergantung pada folat (misalnya homosistein). Namun, rata-rata asupan folat harian di Jerman, Austria, dan Swis saat ini dibawah 300 µg (197 sampai 235 µg untuk pria dan 168 sampai 214 µg untuk wanita) sehingga sebagian besar populasi umum tidak dapat memenuhi asupan folat harian yang diperlukan³⁴.

Asupan vitamin B₁₂ biasanya melebihi kebutuhan. Populasi beresiko tinggi masih mungkin menghadapi masalah. Defisiensi vitamin B₁₂ pada orang-orang lanjut usia seringkali disebabkan oleh absorpsi inadekuat karena penurunan sekresi asam

lambung atau peningkatan ringan pH (lambung) yang berhubungan dengan usia, atau dengan defisiensi faktor-faktor intrinsik, dan dapat mengenai 30 sampai 40 % populasi lanjut usia. Karena vitamin B₁₂ hanya dapat disintesis oleh bakteri, makanan hewani (ikan, daging, telur, produk-produk susu) merupakan satu-satunya sumber vitamin B₁₂ yang baik. Tidak seperti folat, kobalamin adalah vitamin yang relatif stabil dan hampir seluruhnya tetap utuh dalam pemrosesan makanan³⁵.

Daging, susu, sereal, kentang, buah-buahan, dan sayuran sangat kaya vitamin B₆. Tidak ada survei representatif mengenai asupan vitamin B₆ di Jerman, Austria, dan Swis. Data dari *Framingham Heart Study* menunjukkan peningkatan bermakna kadar homosistein plasma untuk asupan vitamin B₆ kurang dari sekitar 1,4 mg/hari. Vitamin B₆ menunjukkan stabilitas lebih besar daripada asam folat. Tidak lebih dari 10 sampai 50 % vitamin B₆ hilang saat penyimpanan dan pemasakan³⁶.

2.2.2.4 Penyebab lain perubahan homosistein plasma

Beberapa faktor seperti ; obat, penyakit, dan gaya hidup memiliki pengaruh terhadap metabolisme homosistein (tabel 1) , terutama jika bertindak sebagai antagonis secara langsung atau tidak langsung dari kofaktor dan aktivitas enzim tetapi juga sebagai akibat dari reaksi pertukaran disulfida, gangguan absorpsi, dan induksi enzim²⁸.

Tabel 1. Penyebab Perubahan Homosistein Plasma (Hcy)

Penyebab	Hcy Mekanisme
<i>Obat</i>	
Teofilin	↑ Antagonis vitamin B ₆ ; menghambat piridoksal kinase
Nitrous Oksida (N ₂ O)	↑ Oksidasi kobal, inaktivasi kobalamin dan MS
Obat penurun lipid	
Fibrat	↑ Aktivasi PPAR α ? Fungsi ginjal?
Niasin	↑ Antagonis vitamin B ₆ ; menghambat piridoksal kinase
Kolestipol/kolestiramin	↑ Gangguan absorpsi asam folat dan kobalamin
Antifolat	
Metotreksat	↑ Menghambat dihidrofolat reduktase, antagonis asam folat
Trimetoprim	↑ Menghambat dihidrofolat reduktase
Hormon	
HRT pasca menopause	↓ Efek estrogen
Kontrasepsi oral	↑(?) Interferensi dengan asam folat? (relevansi masih belum jelas)
Obat anti epilepsi	↑ Antagonisme asam folat, modulasi enzim
Metformin	↑ Menghambat absorpsi vitamin B ₁₂ pengikatan Ca ²⁺
Omeprazol	↑ Menghambat absorpsi vitamin B ₁₂
Mesna	↓ Pertukaran disulfida
Levodopa	↑ Levodopa adalah substrat untuk metilasi SAM-dependen
D-Penisilamin	↓ Pertukaran disulfida
N-asetilsistein	↓ Pertukaran disulfida
Anti estrogen	
Tamoksifen	↓ Antagonis estrogen parsial, induksi enzim?
Raloksifen	↓ Induksi enzim?
Aminoglutetimid	↑ Induksi enzim?
Siklosporin A	↑ Fungsi ginjal?
Sulfasalazin	↑ Menghambat dihidrofolat reduktase dan absorpsi folat
Isoniazid	↑ Antagonis vitamin B ₆ melalui pembentukan kompleks
<i>Keadaan (Hiper) proliferasif</i>	
Psoriasis	↑ Proliferasi sel
Leukemia limfositik akut	↑ Proliferasi sel
Artritis reumatoid	↑ Proliferasi sel
<i>Kelainan tiroid</i>	
Hipotiroidisme	↑ Induksi enzim
Hipertiroidisme	↓ Induksi enzim
<i>Gangguan ginjal</i>	↑↑ Gangguan remetilasi
<i>Merokok</i>	↑ Intereferensi dengan vitamin B ₆ , B ₁₂ , dan folat; redoks
<i>Kopi/Kafein</i>	↑ Antagonis vitamin B ₆ (kafein), kebutuhan kelompok metil ↑
<i>Alkohol</i>	↑ Intereferensi dengan vitamin B ₆ , B ₁₂ , dan folat; inhibisi enzim

2.2.3 Patogenesis

Penelitian klinis dan eksperimental menunjukkan bahwa konsentrasi homosistein yang tingginya abnormal mungkin bertanggung jawab akan kecenderungan aterogenik dan trombosis pada pasien-pasien hiperhomosisteinemia dan homosisteinuria walaupun mekanisme pasti tidak dapat dijelaskan sepenuhnya. Efek homosistein pada vaskuler adalah sebagai berikut :

2.2.3.1 Efek pada endotelium

Lapisan endotel membatasi antara dinding pembuluh darah dengan sirkulasi darah. Lapisan ini mengatur keseimbangan antara kontraksi dan relaksasi otot polos vaskular, adhesi dan agregasi trombosit, adhesi leukosit serta koagulasi darah. Endotel menghasilkan *nitric oxide* (NO) , prostasiklin yang bersifat sebagai vasodilator (sebelumnya dikenal sebagai *endothelial derived relaxing factor/EDRF*). Sedangkan vasokonstriktor dihasilkan endotel adalah endotelin 1, tromboksan A₂ dan prostaglandin H₂ . Adanya stress oksidatif yang menimbulkan kelainan pada endotel maka vasokonstriktor yang terbentuk akan lebih dominan. *Nitric oxide* (NO) melindungi endotel dari homosistein dengan membentuk S-nitrosohomosistein sehingga dapat menghambat pembentukan hidrogen peroksida (H₂O₂) yang bersifat oksidatif. Adanya peningkatan konsentrasi homosistein, maka terjadi akumulasi dan terbentuklah *plaque* pada dinding endotel dengan berbagai macam mekanisme³⁶.

Pada penelitian invitro, beberapa peneliti mengatakan adanya efek sitotoksik langsung homosistein (terutama homosistein tiolakton) pada sel-sel endotelium yang tumbuh dalam kultur jaringan dapat menimbulkan injuri sehingga produksi NO

menurun dan terjadilah disfungsi endotel. Homosistein dapat mengkatalisa produksi H_2O_2 dari oksigen sehingga menyebabkan luka endotel dan menurunkan produksi NO. H_2O_2 juga dapat meningkatkan oksidasi LDL untuk menyebabkan aterosklerosis. Cuprum dapat mengoksidasi homosistein sehingga menghasilkan H_2O_2 yang toksik terhadap endothelium. Penelitian dengan memberikan infus L homosistein selama lima hari pada baboons menyebabkan deskuamasi bercak-bercak pada endothelium vaskuler. Kemudian penelitian yang dilakukan selama tiga bulan menyimpulkan bahwa kerusakan endotel makin hebat seiring dengan makin tingginya konsentrasi homosistein. Dilaporkan pula bahwa homosistein menimbulkan efek pertumbuhan pada sel-sel otot polos (*vascular smooth muscle cell proliferation*) dan terjadinya penurunan sintesis DNA sel endothelium³⁸. Pada penelitian menggunakan *minipigs* mengatakan hiperhomosistein dapat menimbulkan perubahan patologis pada lamina elastika vaskular³⁷.

Peran homosistein terhadap inflamasi endotel vaskuler adalah ternyata DL homosistein dapat merangsang ekspresi dan sekresi sitokin *inflamatori monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)* dan interleukin-8 (IL-8) pada kultur *human aortic endothelial cells (HAECs)*. Tetapi tidak berefek pada *tumor necrotic factor alfa (TNF alfa)*, *granulocyte macrophage colony stimulating factor*, *interleukin 1B* dan *transforming growth factor (TGF beta)*³⁹.

Disebutkan pula bahwa hiperhomosisteinemia pada kultur HAECs menyebabkan peningkatan ekspresi *vascular cells adhesion molecular (VCAM)*, *inter*

cellular adhesion molecular-1 (ICAM-1), *E selectin* dan terjadi peningkatan adhesi monosit yang menyebabkan akumulasi pada sub intima⁴⁰.

2.2.3.2 Efek pada platelet

Penelitian dengan memberikan L homosistein pada baboons dan empat pasien defisiensi *cistathionine beta synthase* ternyata lama hidup platelet menurun dan terjadi pembentukan trombus arteri. Terdapat peningkatan *adhesiveness* platelet akibat penambahan homosistein pada orang normal. Pada hiperhomosisteinemia terjadi kelainan adenosin difosfat (ADP) yang dapat meningkatkan agregasi platelet dan pembentukan tromboksan A₂ (TXA₂) yang menginduksi agregasi trombosit. D.L homosistein secara invitro mempengaruhi metabolisme asam arachidonat sehingga terjadi peningkatan 12-hydroxy-5,8,10-heptadecatrienoic acid dan tromboksan A₂ yang merupakan aggregator platelet yang kuat³⁸.

2.2.3.3 Efek pada faktor pembekuan

Homosistein mempengaruhi banyak faktor yang terlibat dalam kaskade pembekuan. Penelitian secara invitro menunjukkan bahwa homosistein memulai aktivitas prokoagulan. Diemukan bahwa homosistein dapat mengaktivasi faktor V dan meningkatkan aktivasi protrombin pada faktor X serta menghambat aktivasi protein C pada sel endotelium yang dikultur³⁸.

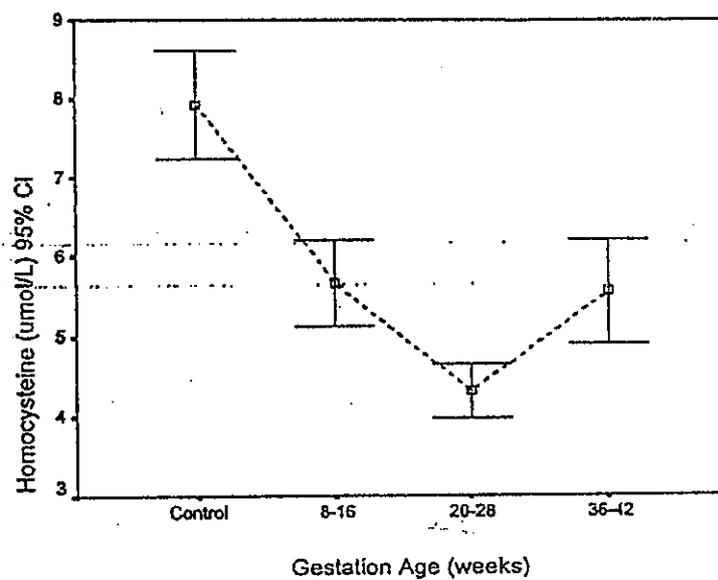
Homosistein juga menghambat aktivitas kofaktor pada trombomodulator pada permukaan sel. Sekresi antitrombin III dan faktor von Wielebran juga dipengaruhi oleh homosistein. Homosistein menghambat pengikatan aktivator plasminogen tipe jaringan bila ditambahkan pada sel endotelium manusia. Pengamatan ini menunjukkan

bahwa homosistein memulai aktivitas protrombosis dalam endothelium vaskuler. Homosistein juga memacu ikatan lipoprotein dengan fibrin. Kadar total homosistein plasma berkorelasi dengan kadar fibrinogen. Pernah diteliti pengaruh pemberian homosistein terhadap sistem fibrinolisis pada kultur sel endotel manusia, ternyata homosistein dapat merangsang sekresi dan ekspresi *plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1)* dan tidak mempengaruhi sekresi dan ekspresi *tissue type plasminogen activator (tPA)*. *Tumor necrosis factor alpha (TNF α)* dan *transforming growth factor beta (TGF β)* sehingga memudahkan terjadinya trombosis⁴¹.

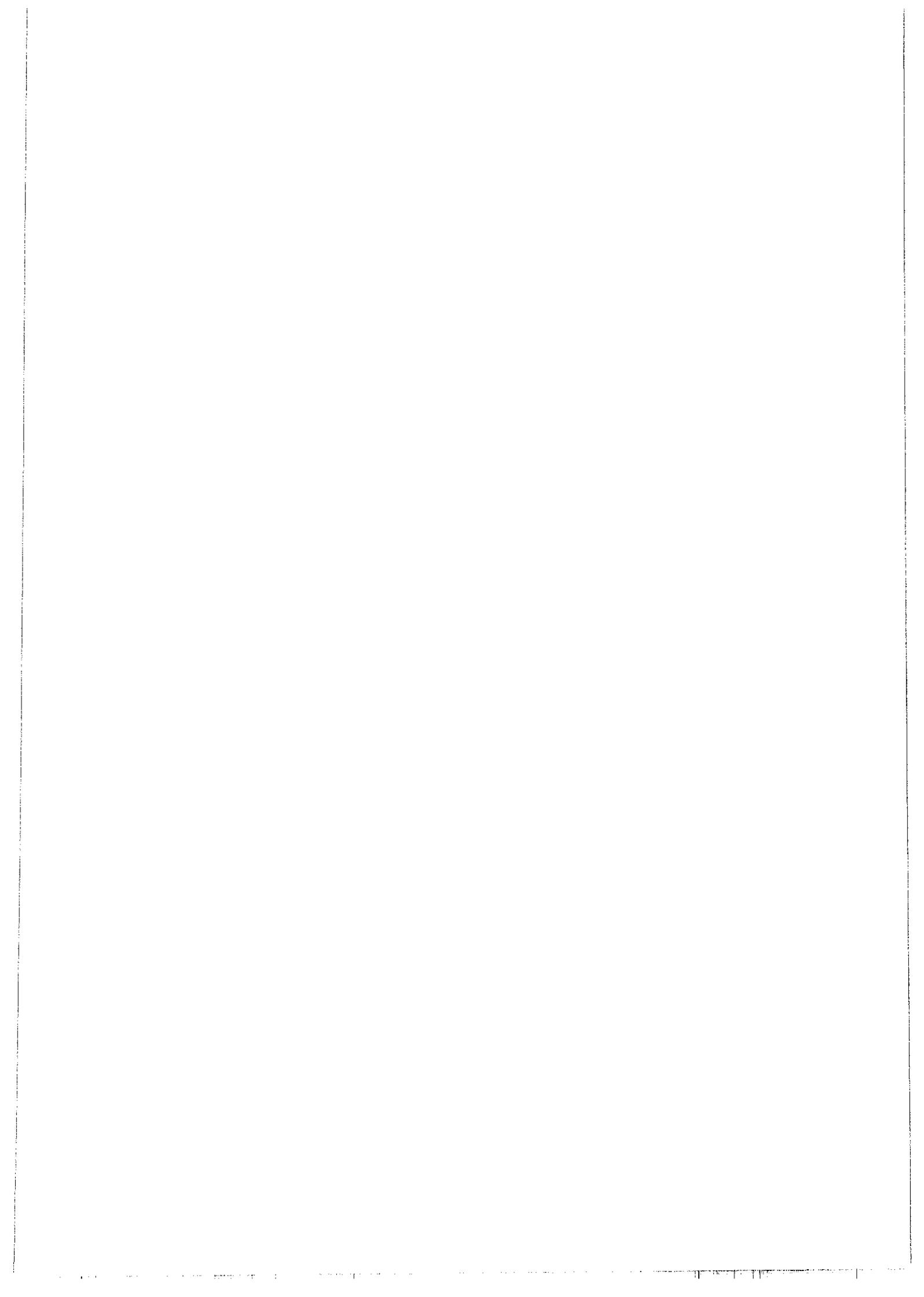
2.2.4 Homosistein dalam kehamilan

Kadar homosistein menurun pada trimester I kehamilan. Pada trimester II dan III kadar homosistein pada serum ibu hamil sekiter 50% dari wanita tidak hamil. Banyak hal yang menyatakan fenomena ini, diantaranya adalah adanya hemodilusi pada saat kehamilan, kadar vit B12 dan asam folat (unsur penting pada jalur remetilasi) lebih rendah pada saat hamil dan hubungan antara metabolisme homosistein dengan status hormonal. Kortisol dan estrogen menyebabkan peningkatan aktivitas enzim Hcy – methyltransferase pada hepar dan methionine sintase pada ginjal yang menghasilkan peningkatan remetilasi dari homosistein menjadi metionin. Pada tikus jantan dewasa yang diterapi dengan kortisol dan estradiol dan atau kombinasi keduanya secara signifikan terjadi penurunan kadar homosistein. Dikatakan bahwa kortisol lebih efektif dalam menurunkan kadar homosistein dari pada estradiol selama kehamilan. Penurunan kadar Hcy dalam kehamilan juga bisa disebabkan karena peningkatan

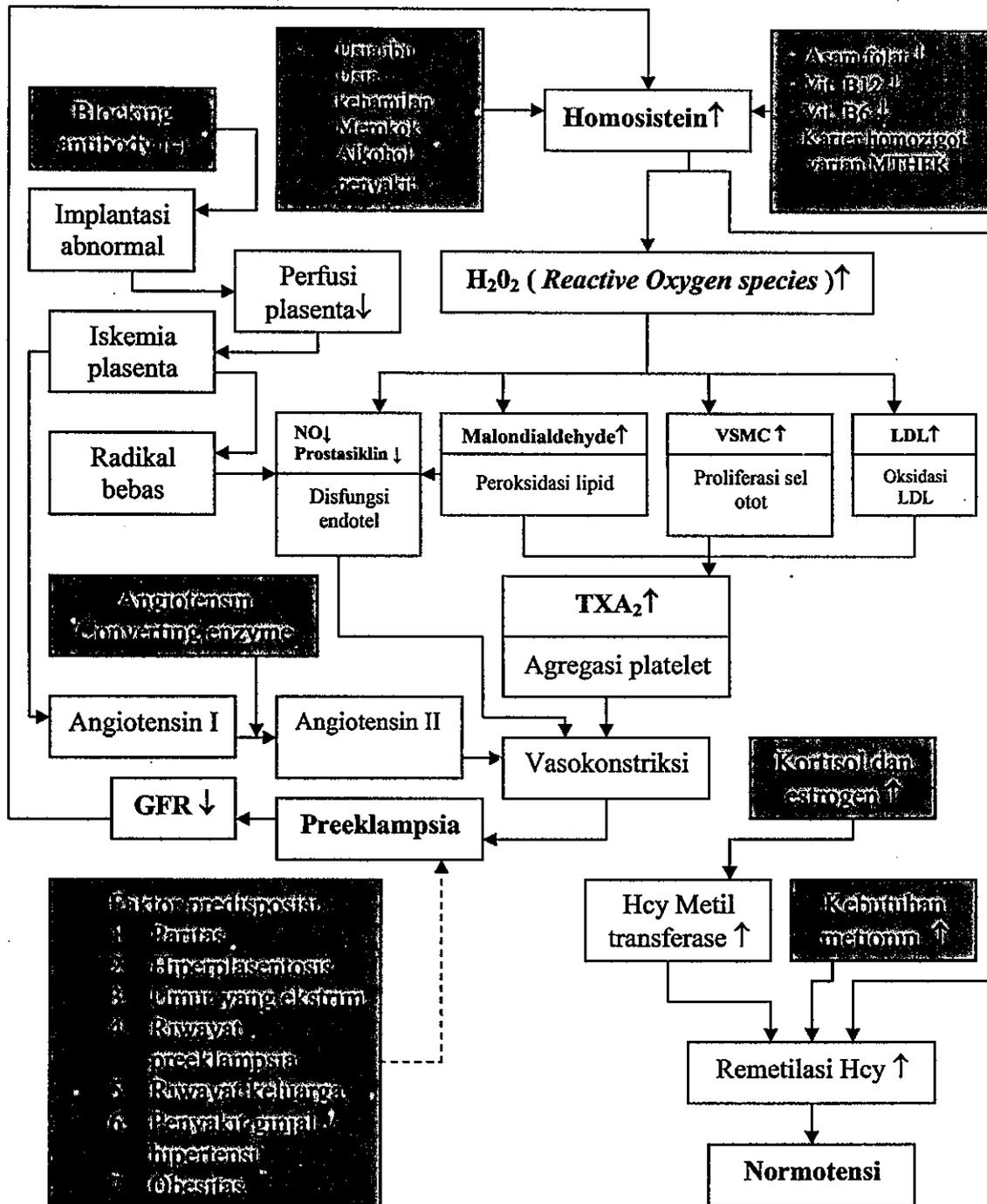
kebutuhan metionin dalam sintesis protein pada janin. Hal ini dapat menghasilkan peningkatan jumlah remetilasi homosistein ke metionin pada ibu. Pada cairan amnion dengan kehamilan normal, homosistein bebas tidak dapat terdeteksi. Homosistein total, yang terbentuk bervariasi pada cairan amnion, menetap konstan selama kehamilan²⁶.



Gambar 3. Kadar serum homosistein pada kehamilan normotensi¹⁶.



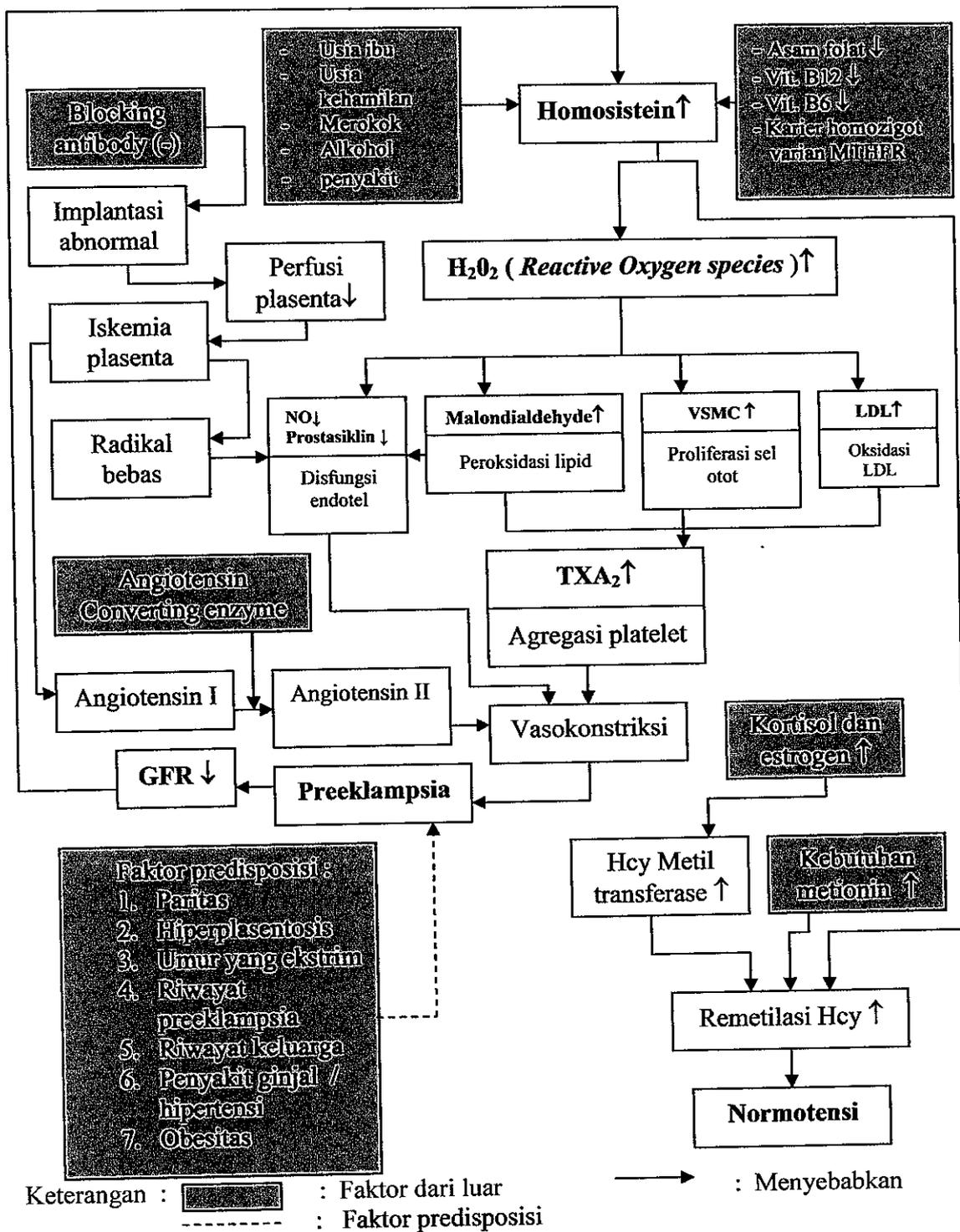
2.2.5 Kerangka teori



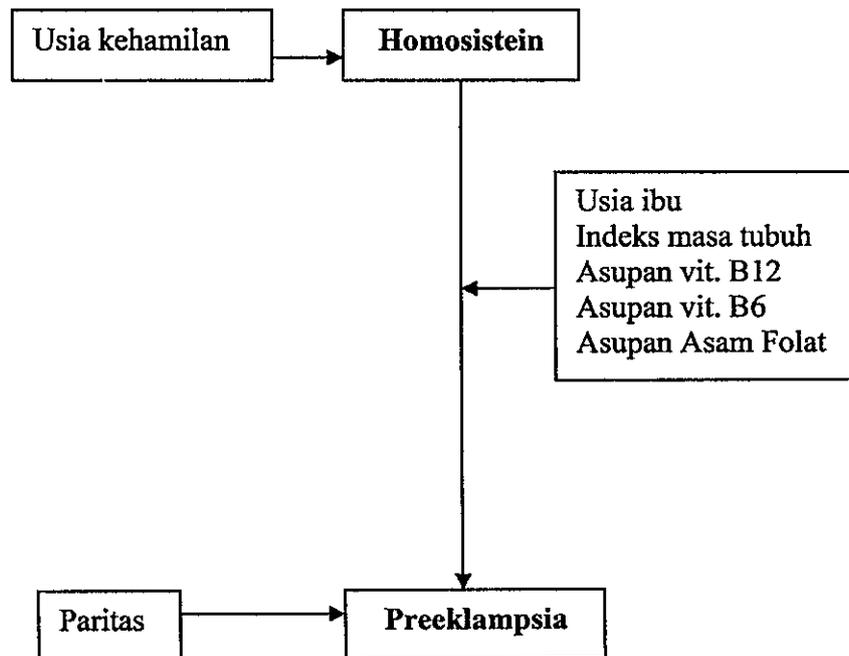
Keterangan : [] : Faktor dari luar
--- : Faktor predisposisi

→ : Menyebabkan

2.2.5 Kerangka teori



2.2.6 Kerangka konsep



BAB 3

HIPOTESIS

Berdasarkan pada beberapa pernyataan yang telah diuraikan di atas, maka hipotesis pada penelitian ini adalah :

1. Kadar total homosistein (tHcy) plasma yang tinggi pada kehamilan trimester II berhubungan dengan terjadinya preeklampsia.
2. Kadar total homosistein (tHcy) plasma yang tinggi pada kehamilan trimester II merupakan prediktor terjadinya preeklampsia.

BAB 4

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah kohort prospektif dengan pembandingan internal.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan mulai 1 Januari 2005 sampai dengan 31 Juli 2005 dan dilakukan di Klinik Kebidanan RS. Dr Kariadi Semarang, Puskesmas Ngesrep dan Halmahera Kodya Semarang.

4.3 Populasi

Ibu – ibu hamil usia kehamilan 20 – 28 minggu yang melakukan pemeriksaan kehamilan di Klinik Kebidanan RS. Dr Kariadi Semarang, Puskesmas Ngesrep dan Halmahera Kodya Semarang.

4.4 Cara Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan cara *non probability sampling* dengan *consecutive sampling*.

4.5 Sampel Penelitian

Adalah semua ibu hamil yang memeriksakan kehamilannya di klinik kebidanan RS. Dr Kariadi Semarang , Puskesmas Ngesrep dan Halmahera dengan ketentuan sebagai berikut :

a. Syarat penerimaan sampel :

1. Primi gravida maupun multi gravida dengan umur kehamilan 20 sampai 28 minggu.
2. Hamil tunggal
3. Tidak ada riwayat hipertensi kronis
4. Normotensi
5. Tidak ada riwayat menderita penyakit ginjal, diabetes mellitus, asma, epilepsi dan penyakit jantung.

b. Syarat penolakan sampel

1. Hari pertama haid terakhir (HPHT) tidak jelas
2. Kehamilan mola hidatidosa

c. *Drop Out*

- Terjadi partus prematurus sebelum terjadi preeklampsia.

4.6 Besar Sampel

Untuk menerima atau menolak hipotesis dengan menggunakan tingkat kemaknaan 0.05 dan power 80% ($z\alpha = 1,96$) dan untuk membedakan proporsi kejadian preeklampsia pada kelompok dengan kadar homosistein serum normal (P_2) dan dengan kadar homosistein serum yang tinggi (P_1) sebesar $(0,37 - 0,13 = 0.24)$ dimana P_2 didapatkan dari Zeeman GG dalam *Homocysteine plasma concentration levels for prediction of preeclampsia in women with chronic hypertension* dari *Am J Obstet Gynaecol* 2003 Aug ; 189 (2) dan P_1 adalah $P_2 \times RR$ dimana RR merupakan resiko relatif yang ditentukan oleh peneliti (*clinical judgment*), maka dalam menentukan besar sampel digunakan rumus uji hipotesis terhadap resiko relatif yaitu :

$$n = \frac{(z\alpha \sqrt{2PQ} + z\beta \sqrt{P_1Q_1 + P_2Q_2})^2}{(P_1 - P_2)^2}$$

n = jumlah sampel keseluruhan minimal

P_2 = proporsi kejadian preeklampsia dengan kadar homosistein serum normal

(0,13)

$z\alpha$ = tingkat kemaknaan 0,05 dan power 80% $z\alpha = 1,96$

$z\beta = 0,842$

$P_1 = RR \times P_2$ $RR = 2,85$ $P_1: 2,85 \times 0,13 = 0,37$

$P = \frac{1}{2} (P_1 + P_2)$ $P : \frac{1}{2} (0,37 + 0,13) = 0,25$

$Q = 1 - P = 0,75$, $Q_1 = 1 - P_1 = 0,63$, $Q_2 = 1 - P_2 = 0,87$

$n = 57,16 \approx 58$ dan kemungkinan drop out adalah 10 % , sehingga besar sampel keseluruhan minimal adalah 64.

4.7 Cara Kerja

Cara pengambilan sampel :

- Sampel darah diambil pada ibu hamil yang datang memeriksakan kehamilannya pada usia kehamilan 20 sampai 28 minggu enam jam setelah makan terakhir yang sebelumnya telah mengisi formulir untuk kesediannya mengikuti penelitian ini. Darah diambil dari vena mediana cubiti sebanyak 5 cc dan dimasukkan ke dalam tabung EDTA. Setelah diambil sampel darah tersebut harus segera disentrifugasi untuk memisahkan plasma . Jika sentrifugasi segera tidak dapat dilakukan, sampel darah dapat disimpan di atas es tidak lebih dari satu jam.

Kegagalan untuk melakukan sentrifugasi segera dan memisahkan plasma dari sel-sel darah menyebabkan peningkatan cepat homosistein plasma (sampai sebesar 10% per jam) karena pengaruh suhu dan waktu, sehingga menyebabkan hasil tinggi palsu. Setelah sentrifugasi, homosistein akan berada dalam keadaan stabil dalam plasma untuk tiga minggu dalam suhu kamar (18 – 25°C), sampai 12 minggu dalam lemari es (2 - 8°C), atau delapan bulan dengan pembekuan -20°C. Sampel darah yang didapat diperiksa untuk mengukur kadar total homosistein (tHcy) plasma dengan teknik *enzyme immunoassay* (EIA) dengan satuan ukuran $\mu\text{mol} / \text{L}$, dengan menggunakan *Homocysteine Microtiter Plate Assay* dari *DIAZYME*.

- Dilakukan wawancara dengan menggunakan questioner untuk data asupan vitamin B12, B6, asam Folat dan data – data lain mengenai penderita sesuai dengan variabel yang dibutuhkan.
- Sampel kemudian diikuti secara prospektif sampai terjadi persalinan dan atau terjadi preeklampsia selama kehamilan. Jika selama kehamilan terjadi partus prematurus dan tidak terjadi preeklampsia maka dikeluarkan dari penelitian
- Setiap ibu hamil yang diteliti tetap menjalani pemeriksaan kehamilan sesuai jadwal yang ditentukan
- Pada setiap kunjungan rutin dilakukan pengukuran tekanan darah, pemeriksaan obstetrik (tinggi fundus uteri, umur kehamilan, denyut jantung janin), juga diperhatikan ada tidaknya oedema.

- Selama pemantauan bila terjadi preeklampsia-eklampsia maka dikelola sesuai dengan pengelolaan preeklampsia-eklampsia Buku Acuan Nasional Pelayanan Kesehatan Maternal dan Neonatal.
- Dilakukan analisis statistik pada kedua kelompok tersebut untuk mencari hubungan dengan terjadinya preeklampsia.

4.8 Variabel Penelitian

- Variabel bebas adalah kadar total homosistein plasma.
- Variabel tergantung adalah terjadinya preeklampsia atau normotensi.
- Variabel perancu adalah usia ibu, usia kehamilan, indeks masa tubuh, asupan vitamin B12, B6 dan asam Folat.

4.9 Batasan operasional

- **Hipertensi** adalah bila tekanan darah diastolik ≥ 90 mmHg atau tekanan sistolik ≥ 140 mmHg. Pemeriksaan menggunakan sphygmomanometer air raksa, dengan ukuran *cuff* yang sesuai (paling tidak dapat melingkari 80% pertengahan lengan atas), posisi duduk dengan lengan disangga atau relaks (*cuff* setinggi jantung) dan menentukan *Korotkoff phase I* (sistolik) dan *phase V* (diastolik).
- **Proteinuria** adalah bila terdapat protein dalam urine dengan kadar ≥ 300 mg/L atau dengan pemeriksaan kualitatif minimal 1+ pada pengambilan urine secara acak.

- **Preeklampsia** adalah hipertensi dalam kehamilan disertai dengan proteinuria yang terjadi pada umur kehamilan lebih dari 20 minggu atau segera setelah persalinan.
- **Preeklampsia ringan** adalah preeklampsia, tanpa satupun gejala atau tanda dari preeklampsia berat.
- **Preeklampsia berat** adalah preeklampsia yang disertai salah satu atau lebih gejala di bawah ini :
 - Tekanan sistolik ≥ 160 mmHg dan atau tekanan diastolik ≥ 110 mmHg.
 - Proteinuria > 5 gr/24 jam atau 4+ dengan pemeriksaan kualitatif.
 - Oliguria, yaitu produksi urine < 500 ml/ 24 jam yang disertai kenaikan kadar kreatinin plasma.
 - Gangguan visus dan serebral.
 - Nyeri epigastrium atau kuadran kanan atas abdomen.
 - Edema paru – paru dan sianosis
 - Pertumbuhan janin terhambat
 - Sindroma HELP (*hemolysis, elevated liver enzymes, low platelet count*)
- Kadar homosistein adalah kadar total homosistein (tHcy) plasma .
- Asupan vitamin B12, B6 dan asam Folat diukur dengan *Food Frequency Questionnaire* setelah itu data yang didapat diolah dengan menggunakan program *Nutrisoft* oleh bagian Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Asupan vitamin B12 menggunakan satuan $\mu\text{g}/\text{hari}$, vitamin

B6 menggunakan satuan mg/hari dan asam Folat menggunakan satuan $\mu\text{g/hari}$.

- Usia ibu dinyatakan dalam tahun, terhitung mulai lahir sampai ulang tahun terakhir
- Usia kehamilan ditentukan berdasarkan hari pertama haid terakhir, dinyatakan dalam minggu
- Paritas adalah ibu yang pernah melahirkan.
- Indeks masa tubuh adalah berat badan dalam kilogram dibagi dengan tinggi badan kuadrat dalam satuan meter.
- Partus prematurus adalah persalinan yang terjadi pada usia kehamilan kurang dari 37 minggu
- Mola Hidatidosa adalah kehamilan abnormal dengan ciri – ciri villus korealis yang avaskuler dan edematus
- Kehamilan trimester II adalah usia kehamilan 16 minggu sampai dengan usia kehamilan 28 minggu. Namun dalam penelitian ini dipakai usia kehamilan antara 20 sampai 28 minggu.

4.10 Analisis data

1. Semua data berskala numerik dihitung nilai rerata dan simpang bakunya.
2. Perbedaan kadar total homosistein (tHcy) plasma dan data lain yang berskala numerik dengan distribusi data normal antara kedua kelompok diuji dengan uji T tak berpasangan atau Uji *Mann - Whitney* jika distribusi data tidak normal atau sampel kurang dari dua puluh.

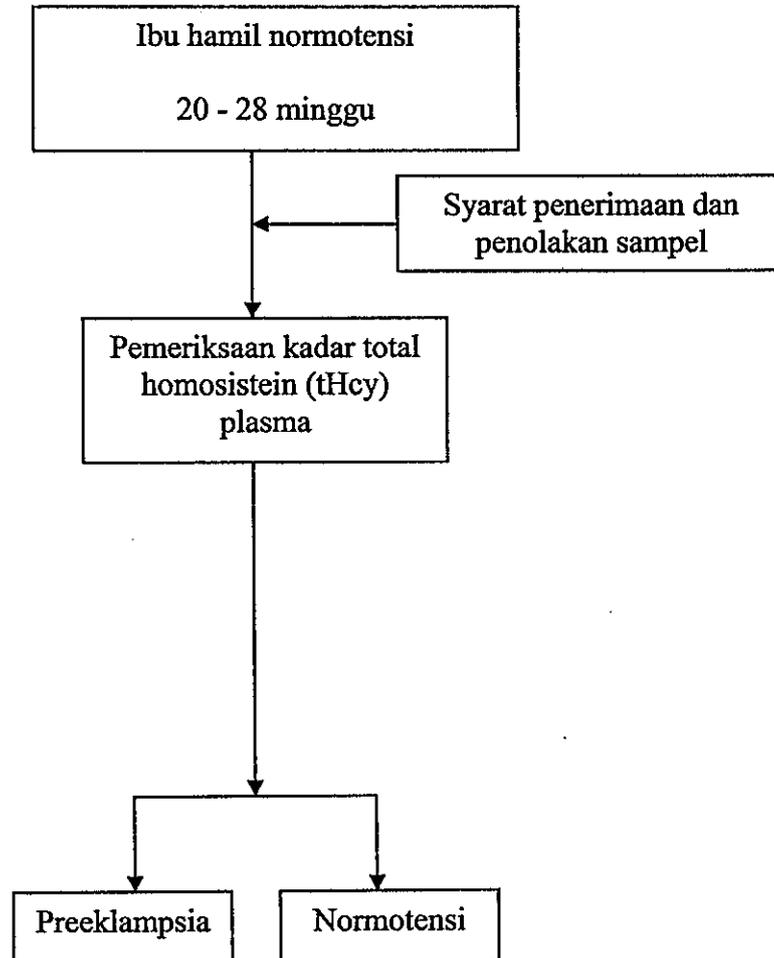
3. Perbedaan data yang berskala kategori antara kedua kelompok diuji dengan *chi – square*.
 4. Dilakukan penghitungan *cut off point* dengan *Receiver Operator Curve (ROC)* untuk mendapatkan data dikotomi untuk kadar homosistein (tHcy) dikatakan tinggi atau tidak.
 5. Perbedaan antara variabel bebas dan tergantung yang keduanya berbentuk kategori diuji menggunakan *chi – square*
 6. Untuk menilai kekuatan hubungan antara dua variabel dengan data ordinal digunakan uji *Spearman rank*.
 7. Sejauh mana kadar total homosistein (tHcy) plasma merupakan prediktor preeklampsia dengan mengendalikan variabel perancu digunakan analisis regresi logistik
- Pengolahan dan analisis data di atas menggunakan komputer dengan program SPSS versi 11.5 for windows, dengan tingkat signifikansi $\alpha=5\%$ ($p = 0,05$) dan power penelitian 80%.

4.11 Etika penelitian

- Subyek penelitian diberi penjelasan tentang maksud dan tujuan penelitian
- Semua subyek pada penelitian ini memberikan persetujuan tertulis yang menyatakan kesediaanya untk mengikuti penelitian, disaksikan oleh suami dan peneliti
- Terhadap subyek penelitian tetap diutamakan pelayanan dengan selalu mengindahkan tata cara etika yang berlaku

- Jika terjadi komplikasi dalam pengambilan sampel darah maka segala biaya dalam penanganannya akan dibebankan kepada peneliti.

4.12 Alur penelitian



BAB 5

HASIL PENELITIAN

Dari 1 Januari sampai dengan 31 Juli 2005 telah dilakukan pemeriksaan pada 64 subyek penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, diantaranya 39 subyek dari RS. Dr Kariadi Semarang, 15 subyek dari Puskesmas Halmahera dan 10 subyek dari Puskesmas Jatingaleh Kodya Semarang. Selama mengikuti perjalanan kehamilan dan persalinan dari semua subyek penelitian, satu subyek penelitian dikeluarkan dari penelitian karena terjadi partus prematurus pada usia kehamilan 36 minggu dan tidak terjadi preeklampsia serta enam subyek menjadi preeklampsia (9,5%) dengan satu subyek menjadi preeklampsia berat dan *intra uterine fetal death* (IUFD) pada usia kehamilan 36 minggu dengan hasil pemeriksaan kadar tHcy pada saat usia kehamilan 24 minggu adalah 14,06 $\mu\text{mol} / \text{L}$ dan pada saat subyek masuk rumah sakit kadar tHcy adalah 44 $\mu\text{mol} / \text{L}$.

5.1 Karakteristik subyek penelitian

Dari tabel dua dapat dilihat rerata usia ibu hamil pada kelompok preeklampsia cenderung lebih muda dari pada kelompok normotensi yaitu $27,5 \pm 4,04$ tahun pada kelompok preeklampsia dan $28 \pm 5,08$ tahun pada kelompok normotensi dimana perbedaan ini tidak bermakna ($p = 0,82$). Rerata indeks masa tubuh pada kelompok preeklampsia cenderung lebih tinggi daripada kelompok normotensi yaitu $23,72 \pm 1,82$ untuk kelompok preeklampsia dan $22,92 \pm 3,23$ pada kelompok normotensi dimana perbedaan ini tidak bermakna ($p = 0,55$). Rerata asupan Vitamin B12 perhari pada kelompok preeklampsia lebih tinggi daripada kelompok

normotensi yaitu $6,21 \pm 1,58 \mu\text{g/hari}$ pada kelompok preeklampsia dan $5,96 \pm 7,4 \mu\text{g/hari}$ pada kelompok normotensi, tetapi perbedaan ini tidak bermakna ($p = 0,93$). Tidak ada perbedaan yang bermakna pada rerata asupan Vitamin B6 pada kedua kelompok yaitu $1,46 \pm 0,55 \text{ mg/hari}$ pada kelompok preeklampsia dan $1,68 \pm 0,60 \text{ mg/hari}$ pada normotensi ($p = 0,38$).

Tabel 2. Karakteristik pada dua kelompok subyek penelitian

Karakteristik	Preeklampsia (n = 6) Rerata (SB)	Normotensi (n = 57) Rerata (SB)	<i>p</i> *
Usia ibu hamil (th)	27,5 (4,04)	28 (5,08)	0,82
Usia kehamilan (minggu)	23,5 (1,87)	24,9 (2,5)	0,20
Indeks masa tubuh	23,72 (1,82)	22,92 (3,23)	0,55
Asupan Vit. B12 ($\mu\text{g/hari}$)	6,21 (1,58)	5,96 (7,44)	0,93
Asupan Vit. B6 (mg/hari)	1,46 (0,55)	1,68 (0,60)	0,38
Asupan asam Folat ($\mu\text{g/hari}$)	263 (116,95)	275 (111,64)	0,79
Usia kehamilan saat persalinan (minggu)	37,8 (1,17)	38,8 (0,89)	0,02
Berat badan bayi (gram)	2883 (350)	3038 (250)	0,12
Paritas ★			
0	4 (66,7)	22 (38,6)	
≥ 1	2 (33,3)	35 (61,4)	0,18

* Uji T tak berpasangan, SB = simpang baku, ★ Paritas : n (%), $p = \text{Chi square}$

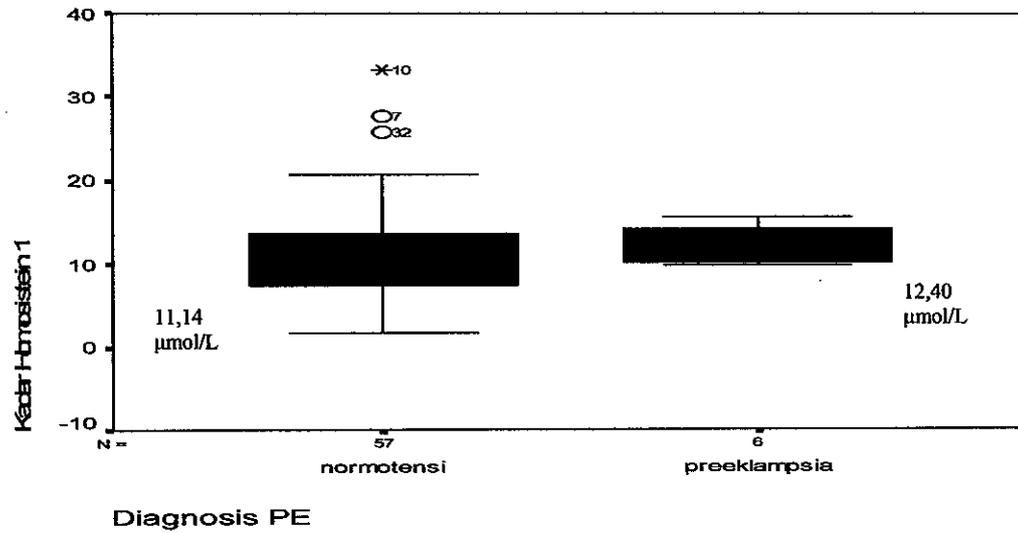
Rerata asupan asam Folat pada kelompok preeklampsia lebih rendah daripada kelompok normotensi yaitu $263 \pm 116,95 \mu\text{g} / \text{hari}$ pada kelompok preeklampsia dan $275 \pm 111,64 \mu\text{g} / \text{hari}$ pada kelompok normotensi tetapi perbedaan ini tidak bermakna ($p = 0,79$).

Rerata usia kehamilan saat persalinan pada kelompok preeklampsia lebih pendek dari pada kelompok normotensi, yaitu $37,8 \pm 1,17$ minggu pada kelompok preeklampsia dan $38,8 \pm 0,89$ minggu pada kelompok normotensi, perbedaan ini bermakna ($p = 0,02$). Rerata berat badan bayi baru lahir pada kelompok preeklampsia cenderung lebih rendah dari pada kelompok normotensi yaitu 2883 ± 350 gram pada kelompok preeklampsia dan 3038 ± 250 gram pada kelompok nonpreeklampsia dimana perbedaan keduanya tidak bermakna ($p = 0,12$).

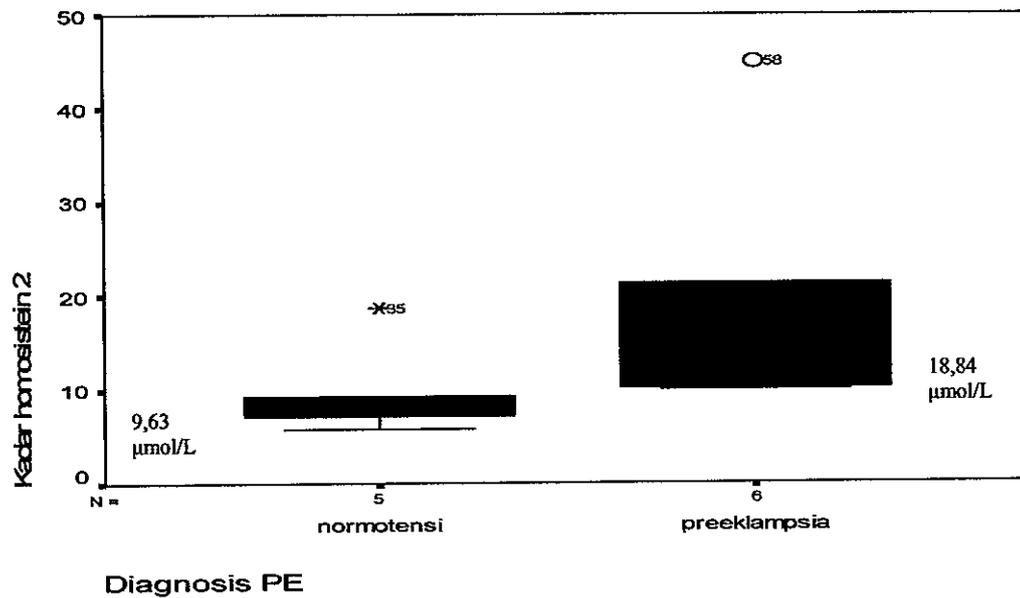
Paritas pada kelompok preeklampsia cenderung lebih banyak pada paritas 0 atau primigravida yaitu 4 (66,7%) daripada paritas ≥ 1 atau multigravida yaitu 2 (33,3%) dimana perbedaan ini tidak bermakna ($p = 0,18$). Pada preeklampsia terjadi lebih banyak pada primigravida. Karakteristik kedua kelompok pada penelitian ini adalah sama kecuali pada usia kehamilan saat persalinan.

5.2 Kadar Homosistein (tHcy)

Pada grafik satu menunjukkan bahwa rerata kadar homosistein (tHcy) yang diukur pada usia kehamilan 20 – 28 minggu (trimester II) pada kelompok yang berkembang menjadi preeklampsia cenderung lebih tinggi dari pada kelompok normotensi yaitu $12,40 \pm 2,52$ dan $11,14 \pm 6,01$ dimana perbedaan ini tidak bermakna ($p = 0,61$).



Grafik 1. Kadar tHcy pada usia kehamilan 20 – 28 minggu (trimester II) pada kelompok preeklampsia dan normotensi. Uji T tak berpasangan, $p = 0,61$.



Grafik 2. Kadar tHcy pada saat terjadi preeklampsia dan tetap normotensi. Uji Mann-Whitney , $p = 0,04$.

Dalam perjalanannya penelitian ini mengukur kadar homosistein ulang pada saat subyek terjadi preeklampsia dan tetap normotensi dengan menggunakan sisa reagen yang ada pada kit, dimana didapatkan sebelas pemeriksaan dengan enam pemeriksaan subyek yang menjadi preeklampsia dan lima pemeriksaan pada subyek yang tetap normotensi dengan pengambilan subyek ini dilakukan secara acak. Pada grafik dua menunjukkan bahwa rerata kadar homosistein (tHcy) pada saat terjadi preeklampsia lebih tinggi daripada kelompok normotensi yaitu $18,84 \pm 3,51 \mu\text{mol/L}$ dan $9,63 \pm 5,15 \mu\text{mol/L}$ perbedaan ini bermakna ($p = 0,04$), analisis dilakukan secara non parametrik karena jumlah sampel kurang dari 20. Dari kedua grafik tampak kadar tHcy lebih tinggi pada preeklampsia daripada normotensi.

5.3 Homosistein sebagai prediktor preeklampsia

Tabel 3. Perbandingan kelompok preeklampsia dan normotensi dengan *cut off point* $9,7 \mu\text{mol/L}$ (berdasarkan kurva ROC)

Kadar tHcy	Preeklampsia n (%)	Normotensi n (%)	p^*	OR	95%CI
tHcy $\geq 9,7$	6 (100)	28 (49,1)	0,017	1,21	1,039 – 1,419
tHcy $< 9,7$	0 (0)	29 (50,9)			

**Pearson Chi square*

Pada tabel tiga, didapatkan *cut off point* $9,7 \mu\text{mol/L}$, maka kadar tHcy $\geq 9,7 \mu\text{mol/L}$ dianggap tinggi. Dengan kadar tHcy $\geq 9,7 \mu\text{mol/L}$ didapatkan 6 (100%) subyek dari kelompok preeklampsia dan 28 (49,1%) subyek pada kelompok normotensi. Pada kadar $< 9,7 \mu\text{mol/L}$ tidak didapatkan subyek pada kelompok

preeklampsia (0%) dan 29 (50,9%) subyek dari kelompok normotensi. Didapatkan perbedaan yang bermakna dari kedua kelompok ini ($p : 0,017$) dan mempunyai korelasi yang positif ($r : 0,3$) dengan menggunakan uji *Spearman rank*. Dengan *cut off point* 9,7 $\mu\text{mol/L}$ didapatkan sensitifitas 100 % dan spesifisitas 50,9 % dengan *Odds Ratio* (OR) 1,21 (95%CI 1,039 – 1,419).

Regresi logistik tidak dilakukan untuk mengendalikan variabel perancu karena tidak didapatkan perbedaan yang bermakna pada karakteristik kedua kelompok, sehingga kadar tHcy yang tinggi ($\geq 9,7 \mu\text{mol/L}$) pada kehamilan trimester II dapat dijadikan prediktor preeklampsia meskipun hanya prediktor yang lemah.

BAB 6

PEMBAHASAN

Telah dilakukan penelitian pada 64 ibu hamil usia 20 minggu sampai 28 minggu (trimester II) yang dilakukan pengukuran kadar total homosistein (tHcy) plasma , selama mengikuti perjalanan kehamilan pada subyek tersebut didapatkan enam subyek (9,5%) mengalami preeklampsia dan satu subyek mengalami partus prematurus pada usia 36 minggu sehingga subyek tersebut dikeluarkan dari penelitian Pada subyek yang mengalami preeklampsia , satu subyek mengalami preeklampsia berat pada usia kehamilan 36 minggu dan pada janinnya terjadi *intrauterine fetal death* (IUFD) dengan hasil pengukuran kadar tHcy pada saat usia kehamilan 24 minggu adalah 14,06 mol/L dan pada saat subyek masuk rumah sakit kadar tHcy adalah 44 mol/L.

Pada penelitian ini didapatkan angka kejadian preeklampsia sebesar 9,5 %, seperti pada terjadi pada negara berkembang berkisar 7 – 10% termasuk di Indonesia³. Tabel dua menunjukkan karakteristik dari kedua kelompok subyek penelitian. Pada usia ibu hamil tidak didapatkan perbedaan yang bermakna yaitu $27,5 \pm 4,04$ tahun pada kelompok preeklampsia dan $28 \pm 5,08$ tahun pada kelompok normotensi. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan di Dublin Irlandia tahun 2001 dimana tidak didapatkan perbedaan yang bermakna pada usia ibu hamil dengan preeklampsia dan normotensi. Sedangkan usia yang ekstrim itu sendiri merupakan salah satu faktor predisposisi terjadinya preeklampsia dan kadar homosistein meningkat sesuai dengan usia^{1,6,7,29}.

Rerata usia kehamilan pada saat dilakukan pengambilan sampel tidak berbeda bermakna pada kedua kelompok yaitu $23,5 \pm 1,87$ minggu pada kelompok preeklampsia dan $24,9 \pm 2,5$ minggu pada kelompok normotensi. Usia kehamilan 20 – 28 minggu adalah usia dimana didapatkan kadar tHcy yang paling rendah daripada usia kehamilan sebelum atau sesudahnya. Dalam penelitian sebelumnya hal ini disebabkan karena adanya penurunan kadar albumin seiring dengan bertambahnya usia kehamilan, dimana 70 – 80 % homosistein terikat oleh albumin, selain itu juga adanya pengaruh pemberian suplemen asam folat, vitamin B6 dan vitamin B12 pada usia kehamilan sebelumnya. Adanya janin juga diduga dapat menyebabkan penurunan kadar homosistein¹⁶.

Obesitas merupakan salah satu faktor resiko terjadinya preeklampsia^{1,6,7}, tetapi pada penelitian ini tidak didapatkan perbedaan yang bermakna pada rerata indeks masa tubuh (*BMI*) kedua kelompok tersebut. Penelitian sebelumnya yang dilakukan di Pittsburgh, Pennsylvania pada tahun 1998 juga tidak mendapatkan perbedaan yang bermakna indeks masa tubuh pada kelompok preeklampsia dan kelompok kontrol⁴⁴.

Rerata asupan vitamin B6, vitamin B12 dan asam folat pada kedua kelompok tidak didapatkan perbedaan yang bermakna. Pengukuran asupan vitamin B6, vitamin B12 dan asam folat dilakukan dengan menggunakan kuesioner dengan menggunakan *Food Frequency Questionare* yang sudah distandarisasi sesuai dengan pola diet masyarakat Indonesia. Setelah mendapatkan datanya kemudian diolah dengan menggunakan program komputer *Nutrisoft* oleh bagian Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Pada penelitian

lain sebelumnya pengukuran kadar vitamin B6, vitamin B12 dan asam folat dilakukan secara langsung pada serum atau plasma dari sampel penelitian, sehingga dapat mengetahui kadar sesungguhnya vitamin – vitamin tersebut di dalam darah. Pada penelitian sebelumnya juga tidak didapatkan perbedaan yang bermakna pada kadar vitamin – vitamin tersebut pada kasus preeklampsia dan normotensi ¹⁴. Rerata asupan vitamin B6 dan vitamin B12 pada kedua kelompok penelitian sudah sesuai dengan *Recommended Daily Dietary allowances* (RDAs) yaitu sebesar 1,3 mg / hari untuk vitamin B6 dan 2,4 µg / hari untuk vitamin B12, sedangkan rerata asupan asam folat masih di bawah RDAs yaitu 400µg /hari ⁴³.

Didapatkan perbedaan yang bermakna pada usia kehamilan saat melahirkan pada kedua kelompok penelitian, dimana pada kelompok preeklampsia usia kehamilan pada saat melahirkan lebih pendek daripada kelompok normotensi yaitu $37,8 \pm 1,17$ minggu dan $38,8 \pm 0,89$ minggu. Disebutkan dari penelitian sebelumnya perbedaan dalam usia kehamilan pada saat melahirkan berpengaruh pada berat badan janin yang dilahirkan hal ini berhubungan dengan penatalaksanaan preeklampsia khususnya preeklampsia berat dan adanya gangguan uteroplacental ¹⁴. Tetapi pada penelitian ini tidak didapatkan perbedaan yang bermakna pada berat janin yang dilahirkan kemungkinan hal ini disebabkan oleh karena kasus yang paling banyak didapatkan adalah kasus dengan preeklampsia ringan (lima sampel), sehingga untuk penatalaksanaan dan gangguan uteroplacental hampir sama dengan kehamilan tanpa preeklampsia. Sedangkan pada satu kasus dengan preeklampsia berat, berat

badan janin saat dilahirkan adalah 2600g lahir pada usia 36 minggu dengan *intrauterine fetal death* (IUFD).

Tidak didapatkan perbedaan yang bermakna dalam paritas pada penelitian ini meskipun pada kelompok preeklampsia lebih banyak subyek primigravida tetapi perbedaan ini tidak bermakna. Primigravida merupakan salah satu faktor predisposisi terjadinya preeklampsia^{1,6,7}, tetapi tidak mempengaruhi kadar homosistein sehingga paritas tidak dimasukkan ke dalam regresi logistik sebagai faktor perancu.

Kadar tHcy pada usia kehamilan 20 – 28 minggu (trimester II) pada penelitian ini tidak didapatkan perbedaan yang bermakna pada dua kelompok yang berkembang menjadi preeklampsia dan tetap normotensi selama masa kehamilan. Dalam perjalanannya penelitian ini berkembang untuk mengukur kadar tHcy pada saat terjadi preeklampsia dan pada subyek yang tetap normotensi dengan menggunakan sisa pada kit homosistein, sehingga diperoleh 11 sampel pemeriksaan dimana semua sampel yang preeklampsia diukur tHcy kembali (enam sampel) dan lima sampel pada normotensi yang ditentukan secara acak. Karena jumlah sampel kurang dari 20 maka dilakukan analisis secara nonparametrik. Dari hasil analisis ini didapatkan perbedaan yang bermakna antara kadar tHcy pada preeklampsia dan normotensi, dimana kadar tHcy pada preeklampsia lebih tinggi yaitu $18,84 \pm 13,51 \mu\text{mol/L}$ dan $9,63 \pm 5,15 \mu\text{mol/L}$ ($p = 0,04$) (grafik 2). Hal ini sesuai dengan penelitian – penelitian sebelumnya yang pernah dilakukan walaupun ada penelitian yang tidak dapat membuktikan hal tersebut^{17,18}.

Dengan diperolehnya *cut off point* dari kurva *ROC* pada kadar tHcy 9,7 $\mu\text{mol/L}$, maka kadar tHcy $\geq 9,7 \mu\text{mol/L}$ dianggap sebagai kadar tHcy yang tinggi pada penelitian ini, dan dengan kadar tersebut pada kehamilan trimester II (20 – 28 minggu) terdapat hubungan yang bermakna dengan kejadian preeklampsia (tabel 3). Sehingga hal ini sesuai dengan hipotesis pertama yaitu kadar homosistein (tHcy) yang tinggi pada trimester II berhubungan dengan terjadinya preeklampsia dengan (OR = 1,214 dan CI 95% 1,039 – 1,419). Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan di Dublin Irlandia pada tahun 2001 yang menyatakan bahwa kadar tHcy pada trimester II sebagai salah satu faktor terjadinya preeklampsia dengan metode *case control* dan dinyatakan bahwa kadar homosistein yang tinggi ($9,8 \pm 3,3 \mu\text{mol/L}$) pada trimester II meningkatkan terjadinya preeklampsia dibandingkan dengan kontrol ($8,4 \pm 1,9 \mu\text{mol/L}$) dan didapatkan nilai *cut off point* pada kadar tHcy 10 $\mu\text{mol/L}$ dengan OR 2,84 dan CI 95% 1,37 – 5,88 ¹⁴.

Untuk hipotesis yang kedua yaitu kadar homosistein (tHcy) yang tinggi pada kehamilan trimester II merupakan prediktor terjadinya preeklampsia pada penelitian ini juga dapat dibuktikan, karena karakteristik kedua kelompok yaitu kelompok yang berkembang menjadi preeklampsia dan tetap normotensi tidak didapatkan perbedaan yang bermakna, sehingga disimpulkan bahwa kadar tHcy pada kehamilan trimester II dapat dijadikan prediktor preeklampsia, meskipun hanya prediktor yang lemah. Hal ini disebabkan karena masih banyak variabel perancu yang belum tergalai pada penelitian ini sebagai penyebab dari terjadinya preeklampsia maupun hiperhomosisteinemia, misalnya pada penelitian ini tidak

dilakukan eksplorasi lebih jauh tentang adanya individu – individu yang mempunyai karier homozigot (*TT Genotype*) dari varian MTHFR (metilentetrahidrofolat reduktase) yang termolabil yang disebabkan oleh adanya *point mutation* pada lokasi nukleotida 677 (MTHFR 677C→T). Dimana hal ini akan menyebabkan aktivitas MTHFR mengalami penurunan sekitar 70 % pada individu - individu tersebut. Karena itu karier mutasi ini sangat sensitif terhadap defisiensi asam folat, dan mengalami peningkatan homosistein plasma sekitar 25%²⁵. Pada penelitian sebelumnya dengan metode *case control* pada *cut off point* 10 µmol/L dapat dijadikan prediktor terjadinya preeklampsia dengan salah satu variabel perancunya adalah karier homozigot (*TT Genotype*)¹⁴.

BAB 7

SIMPULAN DAN SARAN

7.1 SIMPULAN

1. Kadar homosistein total (tHcy) plasma pada preeklampsia lebih tinggi dari pada normotensi.
2. Kadar homosistein total (tHcy) plasma yang tinggi ($\geq 9,7 \mu\text{mol/L}$) pada kehamilan trimester II berhubungan dengan terjadinya preeklampsia.
3. Kadar homosistein total (tHcy) plasma yang tinggi ($\geq 9,7 \mu\text{mol/L}$) pada trimester II dapat dijadikan prediktor terjadinya preeklampsia.

7.2 SARAN

Dengan belum dilakukannya pemeriksaan untuk mengetahui adakah karier homozigot (*TT Genotype*) pada varian MTHFR pada masing – masing individu, dengan cara memeriksa adakah *point mutation* pada lokasi nukleotida 677 (MTHFR 677C→T) yang dapat dijadikan sebagai salah satu penyebab terjadinya hiperhomosisteinemia di samping defisiensi asam folat, vitamin B12 dan B6, maka perlu dilakukan penelitian serupa dengan memeriksa adakah karier homozigot (*TT Genotype*) pada sampel penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cunningham FG, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap LC, Hauth JC, Wenstrom KD. Williams Obstetrics. 21th ed. New York: McGraw-Hill; 2001; p 35-639.
2. Suparmanto S. Gerakan Sayang Ibu. Penatalaksanaan kegawatdaruratan obstetri dan neonatal dalam gerakan sayang ibu. Semarang, Perinasia Cabang Jawa Tengah, 1997 ; 1-6.
3. Junaedi A, Soejoenoes A. Kematian maternal di RSUP Dr.Kariadi Semarang tahun 1991-1995. Naskah lengkap POGI Cabang Semarang. PIT POGI Padang, 1996.
4. Anggorowati D. Hadisaputro H. Kejadian preeklampsia/eklampsia di RSDK tahun 1997-1999. Kumpulan makalah/Kuliah utama. KOGI X POGI Cabang Semarang, Denpasar Bali, 2000.
5. Wahdi, Suhartono A, Praptohardjo U. Kematian maternal di RSUP Dr.Kariadi Semarang tahun 1996-1998. Majalah Obstetri dan Ginekologi Indonesia. POGI. Jakarta, 2000; 65-70.
6. Cowles T, Saleh A, Cotton DB. Hypertensive Disorders of Pregnancy. High Risk.Pregnancy. London: W.B.Saunders Company LTD; 1996 ; 253-61.
7. Mabie WC, Sibai BM. Hypertensive states of pregnancy. In: Decherney AH, Nathan L. Current obstetric & gynecologic. Diagnosis & treatment. 9th ed. New York: The Mc Graw-Hill Companies, 2003; 338-53.
8. Gabor D, Hrniciar J, Hricova I, Zacharova M. Homocysteine a routine biochemical para meter in cardiovascular diseases. Vnitr Lek 1999, 45; 40-45
9. Tawakol A, Omland T, Gerhard M. Hyperhomocysteinemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilation in humans. Circulation 1997, Vol. 95; 1119-21.
10. Satgas gestosis POGI. Panduan pengelolaan hipertensi dalam kehamilan di Indonesia, ed 1, 1985.

11. Wiknjastro GH. Radikal bebas dan proses inflamasi pada preeklampsia. PIT XIII POGI Malang, 2002
12. Angsar MD. Pathogenesis preeklampsia. PIT XIII POGI Malang, 2002.
13. Per M Uiland, Helga R, Shirly AA, Stein EV. The controversy over homocysteine and cardiovascular risk. *AJCN* 2000, Vol. 72(2); 332-424.
14. Cotter AM, Moloy AM, Scott JM, Dely SE. Elevated plasma homocysteine in early pregnancy : Arisk factor for the development of severe preeklampsia. *American Journal of obsterics and gynaecology*. October 2001 Vol. 185 ; 781-85.
15. Sorensen TK, Malinov, Williams MA, King IB, Luthy DA. Elevated second – trimester serum homocysteine levels and subsequent risk of preeklampsia. *Gynaecol Obstet Invest*. 1999 , Vol. 48(2) ; 98-103.
16. Walker MC, Smith GN, Perkins SL, Keely EJ. Changes in homocysteine levels during normal pregnancy. *American Journal of Obsterics and Gynaecology*. March 1999. Vol. 180; 660-4.
17. Rajkovic A, Mahomed K, Malinov MR, Sorenson TK, Woelk GB, Willis MA. Plamsa homocysteine in eclamptic and preeclamptic African women post partum. *Obstet Gynaecol*. Sept. 1999, Vol.94(3); 35-60.
18. Mayerhofer K, Hefler L, Zeisler H, Temfer C, Bodner K, Stoccler IS. Serum homocysteine levels in women with preeklampsia. *Wien Klin Wochhenchr*. Marc 2000 , Vol. 112(6); 271-5.
19. Danesh J, Lewington S. Plasma homocysteine and coronary heart disease; systematic review of published epidemiological studies. *Jaurnal of Cardiovascular Risk*. 1999; 229-32.
20. Clarke R, Daly L, Robinson K. Hyperhomocysteinemia: An independent risk factor for vascular disease. *The New England Journal of Medicine*. 1991, Vol. 324; 1149-55.
21. Stein J, McBride P. Hyperhomocysteinemia and atherosclerotic vascular disease. *Arch Intern Med* 1999, Vol. 158; 1301-6.

22. Rolland PH, Friggi A, BarliaterA. Hyperhomocysteinemia-Induced vascular damage in the Minipig. *Circulation* 1995, Vol. 91; 1161-74.
23. Medina MA, Urdiales JL, Amorez MI. Roles of homocysteine in cell metabolism . *Eur J. Biochem* 2001, Vol. 268 ; 3871-82.
24. Chiang PK, Gordon RK, Tai J, Zeng GC, Doctor BP, Pardhasaradi K. S- Adhenosylmethionine and methylation. *FASEB I* 1996, Vol. 10 ; 471-80.
25. Bender DA. Novel Functions of vitamin B6. *Proc Nutr Soc* 1994; Vol.53; 625-30.
26. Kim Yi. Folate and carcinogenesis : evidence, mechanism and implication. *Jnutr Biochem* 1999 , Vol. 10; 66-88.
27. Stranger O. Physiology of folic acid in healt and desease. *Curr Drug Metab* 2002 , Vol. 3 ; 211-23.
28. Dirand P, Prost M, Loreau N, Lussier-Cacan S, Blache D. Impaired homocysteine metabolism and atherotrombotic disease. *Lab invest* 2001, Vol. 81; 645-72.
29. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG,et.al A candidate genetik risk factor for vascular desease : a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995, Vol. 10; 111-3.
30. Wald DS, Law M, Morris JK. Homocysteine and cardiovascular disease : evidence on causality from a meta analysis. *Br Med J* 2002, Vol.325 ; 1202-8.
31. Kelly PJ, Rosand J, Kistler JP, shih VE, Silveira S, Furie KI. Homocysteine MTHFR 677C-T polymorphism, and risk of ischemic stroke : result of metaanalysis. *Neurology* 2002, Vol. 59 ; 529-36.
32. Wilson A, platt R, Wu Q, Grave LA, Rozen R. A common variant in methionine synthase reductase combined with low cobalamin (vit B12) increase risk for spina bifida. *Mol Genet Metab* 1999, Vol. 67 ; 317-23.
33. Shroeder HA, Losses of vitamin and trace minerals resulting from processing and preservation of food. *Am J Clin Nutr* 1991, Vol. 24; 62-73.

34. Beitz R, Mensink GB, Fisher B. Vitamin dietary intake and intake from dietary supplements in Germany. *Eur J Clin Nutr* 2002, Vol. 56; 539-45.
35. Herbert V. Vitamin B-12 : plant sources, requirement and assay. *Am J Clin Nutr* 1998, Vol. 48 ; 352-8.
36. Gregory JF 3rd, Kirk JR . The bioavailability of Vitamin B-6 in foods. *Nutr rev* 1981, Vol. 39; 1-8.
37. Rolland PH, Friggi A, BarliaterA. Hyperhomocysteinemia-Induced vascular damage in the Minipig. *Circulation* 1995, Vol. 91; 1161-74.
38. Ellen LM, Donald WD, Robins K . Homocysteine and Coronary atherosclerosis. *JACC* 1996, Vol. 27; 517-27.
39. Ranjana P, Natarajan S, Patricia M . Homocysteine induce expression and secretion of monocyte chemoattractant Protein 1 and interleukin-8 in Human Aortic Endothelia celis. *Circulation* 2001, Vol. 103; 2717.
40. Matthew DS, Ramagopal JT, Wishel D. Homocysteine up regulated vascular cell adhesion molecular expression in cultured human aortic endothelial cells and enhance monocyte adhesion . *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 2002, Vol.22; 587.
41. Midorikawa S, Sanada H, Hashimoto S, Watanabe T. Enhancement by homocysteine of plasminogen activator inhibitor-1 gene expression and secretion from vascular endothelial and smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2000, Vol.272; 182-5.
42. Luciano E, Mignini MD, Palavi M. Mapping the theories of preeclampsia : the role of homocysteine. *The American College of Obstetricians and Gynaecologist*. 2005, Vol. 105 ; 411 – 25.
43. Recommended daily dietary allowances for women. Availible from URL ; <http://www.Recommended%20Daily%Dietary%20Allowances.htm>.
44. Power RW, Evans RW, Major AK. Plasma homocysteine concentration is increase in preeclampsiaand associated with evidence of endothelial activation. *Am J Obstet Gynaecol*. 1998, Vol. 179 ; 1605 – 11.