

ARTIKEL PENELITIAN

Gambaran Histopatologi Selaput Ketuban pada Perempuan Hamil yang Mendapat *Acetylsalicylic Acid* (ASA) Dosis Rendah**Mourisa C^{1,2}, Zain-Hamid R¹, Betty¹**¹Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara,²Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara*Email:* cutmourisa@umsu.ac.id

Abstrak: *Acetylsalicylic acid* (ASA) adalah obat antiinflamasi golongan non steroid yang mempunyai efek kerja sebagai analgetik, antipiretik, anti-inflamasi dan antitrombotik (pada dosis rendah); dengan indikasi pada penatalaksanaan stroke, infarkmiokard, trombosis, sindrom antiphospholipid dan pencegahan pre-eklamsia dan eklamsia selama kehamilan. Pemberian ASA jangka panjang pada perempuan hamil menyebabkan keadaan defisiensi vitamin C melalui mekanisme hambatan absorpsi, transpor, peningkatan ekskresi vitamin C, sehingga mengganggu sintesa protein pada matriks ekstraseluler (MES) selaput ketuban. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran struktur histopatologi (ketebalan lapisan amnion-korion) pada selaput ketuban perempuan hamil yang mendapat ASA dosis rendah. Penelitian ini menggunakan design *cross sectional* dengan menggunakan 81 subjek sebagai sampel dengan teknik *consecutive sampling*; kelompok kasus mendapat ASA dosis rendah dan kelompok control tanpa ASA dosis rendah. Pada saat persalinan dilakukan pengambilan selaput ketuban untuk diperiksa. Hasil penelitian menunjukkan selaput ketuban pada kelompok kasus ($85,18 \pm 15,98$) lebih tipis dibandingkan kelompok kontrol ($111,68 \pm 27,19$), ($p < 0,05$). Simpulan, pemberian ASA dosis rendah jangka panjang pada perempuan hamil menurunkan ketebalan selaput ketuban.

Kata kunci: ASA dosis rendah, histopatologi selaput ketuban, ketebalan selaput ketuban.

Histopathological Appearance on The Fetal Membranes of Pregnant Women who Received Low-Dose ASA

Abstract: *Acetylsalicylic acid* (ASA)/aspirin is a class drug of nonsteroidantiinflammation that is widely used with a variety of properties, such as analgetic, antipyretic, antiinflammation and antithrombotic (at low doses) with an indication for treatment of stroke, myocardial infarction, thrombosis, antiphospholipid syndrome and prevention of pre-eclampsia and eclampsia during pregnancy. Long-term use of ASA in pregnancy causes deficiency of vitamin C through mechanism of disturbance absorption and distribution, increased excretion of vitamin C, thereby disrupting the synthesis of proteins in the extracellular matrix (ECM) of fetal membranes. This study aims to determine

histopathological changes in the structure overview (amnion-chorion layer thickness) on the fetal membranes of pregnant women who received low-dose ASA. Design of this study is cross sectional with 81 subjects using selected by consecutive sampling technique. A total of 27 subjects (cases) received low-dose ASA and 54 subjects (control group) without low-dose ASA. The fetal membrane were collected when delivery and to be examined. The results showed the fetal membranes in the case group (85.18 ± 15.98) is thinner than the control group (111.68 ± 27.19) ($p < 0.05$). The provision of long-term low-dose ASA in pregnant women shown to decrease the thickness of fetal membranes and weaker immunohistochemical appearance of fibronectin.

Keywords: low-dose ASA, thickness of fetal membranes, histopathological fetal membrane.

PENDAHULUAN

Acetylsalicylic acid (ASA) adalah obat golongan non steroid antiinflamasi yang mempunyai efek kerja sebagai analgetik, antipiretik, antiinflamasi dan antitrombotik.¹ Obat ini mempunyai rentang dosis sesuai mekanisme kerjanya. Sebagai antitrombotik, dosis ASA yang digunakan adalah dosis rendah dengan kisaran dosis 80-325mg. Indikasi ASA yaitu untuk penatalaksanaan stroke, infark miokard (MCI), trombosis, sindrom antiphospholipid serta pencegahan pre-eklamsia dan eklamsia selama kehamilan.^{2,3}

Sindrom antiphospholipid (APS) adalah gangguan autoimun yang dapat menyebabkan trombosis pembuluh darah, abortus berulang akibat adanya trombosis di pembuluh

darah plasenta. APS masih menjadi penyakit yang sering mengakibatkan keguguran berulang.⁴ Pengobatan kombinasi aspirin/ASA dosis rendah (dengan menghambat produksi tromboxan A₂ (Tx A₂) beserta dengan pemberian heparin merupakan terapi pilihan.⁵

Pada kehamilan, pembentukan selaput amnion berasal dari jaringan ekstra-embrio yang terdiri dari bagian fetal (*the chorionic plate*) dan bagian maternal (*the decidua*).⁶ Selaput amnion dan korion manusia terdiri dari beberapa lapisan, dengan berbagai jenis kolagen (tipe I, III, IV, V, VI) dan glikoprotein non-kolagen yang terdapat didalam matriks ekstraseluler (MES).⁷

Ketahanan selaput ketuban juga dipengaruhi oleh keberadaan dan kondisi (keterikatan) berbagai

komponen penunjang selaput ketuban, seperti kolagen, dan glikoprotein non-kolagen lainnya. Perubahan pada membran, termasuk penurunan kadar kolagen, struktur kolagen, peningkatan aktivitas kolagenolitik, merupakan salah satu faktor risiko untuk terjadinya ketuban pecah dini/KPD (*premature rupture of the membrane/PROM*).⁸

Vitamin C (*ascorbic acid*) adalah zat yang dibutuhkan untuk pembentukan kolagen dan stabilitas *collagen cross-link*, kadar vitamin C jaringan merupakan mediator penting dalam proses inisiasi *rupture membrane* sebagai fungsi dari kolagen *cross-link* rasio.⁹

Obat golongan salisilat juga menghambat *uptake* vitamin C ke dalam leukosit dan platelet. Selain itu ASA/aspirin juga dapat meningkatkan ekskresi vitamin C melalui urin dan menurunkan konsentrasi vitamin C platelet; menurunkan kadar *ascorbic acid* leukosit dan menurunkan kemampuan metabolismenya.^{10,11}

Penelitian mengkaji pengaruh pemberian ASA/ aspirin dosis rendah (80-100 mg) pada perempuan hamil

(mengalami APS atau pre-eklamsia/eklamsia atau riwayat pre-eklamsia/eklamsia) terhadap gambaran/perubahan histopatologi struktur selaput ketuban.

METODE

Penelitian ini bersifat deskriptif analitik dengan rancangan penelitian *cross sectional*. Sampel penelitian ini adalah perempuan hamil usia 20-40 tahun. Kriteria inklusi sampel: usia kehamilan >37 minggu, kehamilan normal dan tidak mendapat *acetylsalicylic acid* (ASA) yang akan menjadi kelompok kontrol dan perempuan hamil usia 20-40 tahun yang mendapat *acetylsalicylic acid* (ASA) dosis rendah (80-100 mg/hari) yang akan menjadi kelompok kasus, persalinan normal atau *section caesarea*, selaput ketuban berwarna putih mengkilat tanpa mekonium dan amnion nodosum. Perekrutan sampel dilakukan di beberapa praktek dokter spesialis kandungan dengan metode *consecutive sampling* dengan jumlah 81 orang.

Subjek yang bersedia ikut serta dalam penelitian, diminta

persetujuannya dalam bentuk *informed consent* tertulis setelah dilakukan penjelasan secara lisan dan tulisan. Penelitian dilaksanakan setelah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.

Pada saat subjek mengalami persalinan di rumah sakit/klinik, dilakukan pengambilan jaringan selaput ketuban untuk dilakukan pemeriksaan makroskopis diikuti fiksasi jaringan. Selanjutnya dilakukan prosesing jaringan di laboratorium patologi anatomi dimulai dengan penggulungan jaringan, fiksasi, pengirisan jaringan dan dilanjutkan dengan pembuatan sediaan histopatologi. Pewarnaan sediaan dengan menggunakan pewarnaan *Haematoxylin* dan *Eosin*.

Selanjutnya dilakukan pengukuran ketebalan jaringan selaput ketuban dengan menggunakan mikroskop *Primostar ZEISS* yang dilengkapi kamera *Axiocam ERc5s* dan *software Axiovision Rel. 4.8.2*. Tiap sediaan diperiksa pada 3 area (dengan arah jam 12; teknik Fujikura).⁷ Ketebalan selaput ketuban diukur dari batas bawah epitel aminon sampai pada batas bawah membran basal lapisan korion pada daerah yang berwarna merah sesuai dengan gambaran kolagen dari pewarnaan tersebut. Pengukuran ketebalan selaput dengan koefisien variasi <10%.

HASIL

Perbandingan ketebalan selaput ketuban pada kelompok kasus dan kelompok kontrol.

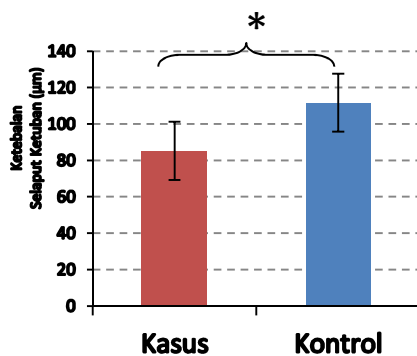
Tabel 1 Rerata dan simpangan baku ketebalan selaput ketuban pada kelompok kasus dan kelompok kontrol

| Kelompok | Rerata | SD | Minimum (µm) | Maksimum (µm) |
|-----------------|--------|-------|--------------|---------------|
| Kasus ASA (+) | 85,18 | 15,98 | 52,68 | 127,46 |
| Kontrol ASA (-) | 111,68 | 27,19 | 63,25 | 204,22 |

Keterangan: *SD* (*Standard deviation*)

Hal ini menunjukkan bahwa rerata ketebalan selaput ketuban kelompok kasus ($85,18 \pm 15,98$) lebih tipis dibandingkan kelompok kontrol ($111,68 \pm 27,19$). Pada kelompok kasus, selaput ketuban yang paling tipis adalah $52,68 \mu\text{m}$ dan yang paling tebal adalah $127,46 \mu\text{m}$; sedangkan pada kelompok kontrol, selaput ketuban yang paling tipis adalah $63,25 \mu\text{m}$ dan yang paling tebal adalah $204,22 \mu\text{m}$. Grafik histogram ketebalan selaput ketuban pada masing-masing kelompok ditampilkan pada Gambar 1.

Gambar 1 Grafik rerata ketebalan selaput ketuban pada kelompok kasus dan kontrol (* $p < 0,05$)



Hasil uji statistik *Mann Whitney* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara tebal selaput ketuban pada kelompok kasus dan kelompok kontrol ($p < 0,05$).

DISKUSI

Pada penelitian ini, selaput ketuban pada kelompok kasus yang mendapat ASA dosis rendah (80-100 mg/hari) lebih tipis dibandingkan kelompok kontrol (tabel 1). Hal ini disebabkan karena penggunaan ASA menyebabkan penurunan absorpsi dan peningkatan ekskresi vitamin C. Suatu penelitian menemukan bahwa kadar vitamin C dalam serum subjek yang mendapat ASA lebih rendah dibandingkan subjek yang tidak mendapat ASA. Keadaan ini mengakibatkan gangguan sintesa kolagen sehingga mengurangi konsentrasi kolagen yang terbentuk.¹² Penelitian lain menunjukkan bahwa jumlah kolagen pada kelompok yang memiliki kadar vitamin C rendah lebih sedikit, daripada kelompok yang memiliki kadar vitamin C normal.¹³

Penurunan ketebalan selaput ketuban akibat konsekuensi berkurangnya jumlah kolagen akan mempengaruhi perubahan struktur dan mekanisme biokimia selaput ketuban. Perubahan biokimia inilah yang terlibat dalam patogenesis terjadinya *premature rupture of*

membrane (PROM). Pada kelompok dengan PROM ditemukan adanya degradasi kolagen pada lapisan amnion dan korion dan ketebalan selaput ketuban pada kelompok PROM, lebih tipis dibandingkan pada kelompok kontrol dan jumlah kolagen pada kelompok PROM lebih rendah dari kelompok kontrol.^{14,15} Penelitian lain yang melakukan pengukuran terhadap konsentrasi vitamin C dalam leukosit menemukan kadar vitamin C pada kelompok PROM lebih rendah daripada kelompok kontrol. Frekuensi kejadian PROM meningkat pada kelompok konsentrasi *ascorbic acid* (vitamin C) rendah dibandingkan kelompok konsentrasi tinggi.^{16,17} Elkhwad (2005), menemukan adanya perubahan morfologi selaput ketuban pada PROM berupa kelainan komponen jaringan ikat, penipisan lapisan trophoblast, peningkatan apoptosis trophoblast dan penipisan desidua.¹⁸

Ketebalan selaput ketuban pada penelitian ini bervariasi, pada kelompok kasus ukurannya berkisar antara 52,68-127,46 μm , sedangkan

pada kelompok kontrol berkisar antara 63,25-204,22 μm . Variasi ini mungkin terjadi karena perbedaan ambilan vitamin C dari asupan nutrisi masing-masing subjek. Penelitian Madruga (2009) mendapatkan bahwa konsentrasi *ascorbic acid* lebih tinggi pada kelompok perempuan hamil dengan skor makanan kaya nutrisi (*rich food intake score*) yang tinggi, dibandingkan kelompok kontrol ($r=0,36$; $p<0,001$).¹⁹

Kadar *ascorbic acid* ini juga dipengaruhi oleh faktor parietas dan usia. Penurunan kadar vitamin C dalam plasma dan jaringan sejalan dengan peningkatan usia.²⁰ Pada penelitian ini, ukuran selaput ketuban yang paling tebal dijumpai pada lima subjek di kelompok kontrol (26-29 tahun) dan lima subjek di kelompok kasus (23-28 tahun). Penelitian Sylvester menemukan konsentrasi *ascorbic acid* paling tinggi pada kelompok perempuan hamil dengan usia 22-25 tahun dan paling rendah pada kelompok usia 34-37 tahun. Penelitian lain menyebutkan bahwa konsentrasi serum total *ascorbic acid* pada kelompok usia >30 tahun lebih

rendah dibandingkan kelompok usia <30 tahun ($p < 0,05$). Keadaan ini mungkin berhubungan dengan stress lingkungan dan stress oksidatif sel yang sejalan dengan peningkatan usia, yang mengakibatkan kerusakan biologis sel pada tingkat molekular.^{21,22}

KESIMPULAN

Selaput ketuban pada kelompok kasus (perempuan hamil yang mendapat ASA/aspirin dosis rendah) lebih tipis daripada kelompok kontrol (perempuan hamil yang tidak mendapat ASA/aspirin) ($p < 0,05$).

DAFTAR PUSTAKA

1. Goodman dan Gillman. 2012. Dasar Farmakologi Terapi volume 1 edisi 10, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta. p. 579-80.
2. Walsh, C.T. and Schwartz-Bloom, R.D. 2005. Pharmacology: Drug actions and reactions, Little, Brown and Company, Boston. p. 517-18.
3. Levine, J., Warebranch, D. and Joycerauch. 2002. The antiphospholipid syndrome, medical progress, NEJM. 34: 10.
4. Rai, R.S. 2002. Antiphospholipid syndrome and recurrent miscarriage. J Postgrad Med. 48: 3-4.
5. Bates, S.M. American Society of Hematology. 2010. The pregnant patient pregnancy loss. DOI: 10.1182/asheducation-2010.1.166 [updated Juni 2010].
6. Niknejad, H., Peirovi, H., Jorjani, M., Ahmadiani, A., Ghanavi, J. and Seifalian, A.M. 2008. Properties of the amniotic membrane for potential use in tissue engineering. Eur Cell Mater. 15, 88-99.
7. Benirschke, K., Kaufmann, P. and Baergen, R. 2006. Pathology of the Human Placenta, New York, Springer, p. 321-37.
8. Parry, S. and Strauss, J. 1998. Premature rupture of the fetal membranes, mechanism of disease. NEJM. 338(10): 663-70.
9. Myllyharju, J. 2003. Prolyl 4-hydroxylases, the key enzymes of collagen biosynthesis. Matrix Biol. 22: 15.

10. Levine, M., Rumsey, S. C., Daruwala, R., Park, J. B. and Wang, Y. 1999. Criteria and recommendations for vitamin C intake, JAMA. 281: 1415-23.
11. Stargrove, M.B. and Treasure, J.M. 2008. Vitamin interaction. In: Herb, Nutrient, and Drug Interactions, Clinical Implications and Therapeutic Strategies. Mosby Elsevier, p. 396-99.
12. Langlois, M., Duprez, D., Delanghe, J., De-Buyzere, M. and Clement, D. L. 2001. Serum Vitamin C Concentration Is Low in Peripheral Arterial Disease and Is Associated With Inflammation and Severity of Atherosclerosis. Circulation. 103: 1863-68.
13. Stuart, E.L., Evans, G.S., Lin, Y.S. and Powers, H.J. 2005. Reduced collagen and ascorbic acid concentrations and increased proteolytic susceptibility with prelabor fetal membrane rupture in women. BiolReprod. 72: 230-5.
14. Woods, J.R. Jr. 2001. Reactive oxygen species and preterm premature rupture of membranes. Placenta. 22: S38-44.
15. Frigo, P., Lang, C., Sator, M., Ulrich, R. and Husslein, P. 1998. Membrane thickness and PROM high-frequency ultrasound measurements. PrenatDiagn. 18(4): 333-7.
16. Tejero, E., Perichart, O., Pfeffer, F., Casanueva, E. and Vadillo-Ortega, F. 2003. Collagen synthesis during pregnancy, vitamin C availability, and risk of premature rupture of fetal membranes. Int J Gynaecol Obstet. 81: 29-34.
17. Zamani, M., Goodarzi, M.T., Lavasani, N.S. and Khosravi, A. 2013. Effects of ascorbic acid on serum level of unconjugated estriol and its relationship with preterm premature rupture of membrane. Iran J Med Sci. 38(3): 227-32.
18. El Khwad, M., Stetzer, B. and Moore, R.M. 2005. Term human fetal membranes have a weak zone overlying the lower uterine pole and cervix before onset of labor. BiolReprod. 72(3): 720-6.

19. Madruga de-Oliveira, A., Patricia H.C., Julicristie, R. and Oliveira, M. 2009. Maternal alcohol consumption may influence cord blood ascorbic acid concentration: findings from a study of Brazilian mothers and their newborns. *Br J Nutr.* 102: 895-98.
20. Van der-Loo, B., Bachschmid, M., Spitzer, V., Brey, L., Ullrich, V. and Lüscher, T.F. 2003. Decreased plasma and tissue levels of vitamin C in a rat model of aging: implications for antioxidative defense. *Biochem Biophys Res Commun.* 303(2): 483-7.
21. Sylvester, I.E. and Paul, A. 2009. Effects of socio demographic factors on plasma ascorbic acid and alpha tocopherolanti oxidants during pregnancy. *Pak J Med Sci.* 25(5): 755-59.
22. Hassan, G.I., and Onu, A.B. 2012. Total serum vitamin C concentration in pregnant women: implications for a healthy pregnancy Niger. *J Clin Pract.* 15(4): 380-4.