

PROTEIN P53 SEBAGAI FAKTOR RISIKO TERJADINYA KETUBAN PECAH DINI

DONEL SUHAIMI

RS. Arifin Achmad - Riau

email korespondensi: donelmy@yahoo.com

Abstrak

Ketuban pecah dini (KPD) merupakan komplikasi kehamilan yang menjadi masalah penting bagi seorang dokter kebidanan. Banyak teori yang telah menerangkan penyebabnya, tetapi penyebab pastinya masih belum diketahui. Mekanisme pecahnya selaput ketuban diduga oleh karena pecahnya matriks ekstraselular. Proses apoptosis sangat dipengaruhi oleh sinyal yang berasal dari protein ekstra dan intraselular. Faktor intraselular diperankan oleh p53. Faktor ini akan menimbulkan kerusakan selaput ketuban yang akan menginduksi peningkatan kaspase, mengakibatkan apoptosis selaput ketuban yang berlebihan sehingga menimbulkan KPD. Penelitian yang bertujuan menganalisis kadar kadar protein p53 pada kehamilan yang mengalami ketuban pecah dini (KPD) di Departemen Obstetri dan Ginekologi RS Dr. Hasan Sadikin dan unit penelitian kedokteran (UPK) Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran Bandung. Penelitian dilakukan mulai Juli 2009 sampai Juni 2010. Penelitian ini merupakan analisis observasional dengan rancangan penelitian kasus kontrol. Kelompok kasus sebanyak 81 penderita KPD yang memenuhi kriteria penerimaan dan penolakan diambil secara consecutive sampling, sedangkan kelompok kontrol sebanyak 81 penderita dengan kehamilan normal pada usia kehamilan ≥ 37 – <42 minggu yang diambil secara dipadankan. Data dasar karakteristik penderita meliputi usia ibu, usia kehamilan sesuai hari pertama haid terakhir (HPHT) yang jelas atau dari rekam medik yang dipercaya, paritas, pemeriksaan klinis, pemeriksaan laboratorium rutin, pemeriksaan kadar protein p53 dengan ELISA. Analisis hasil dilakukan menggunakan analisis bivariabel (uji Shapiro Wilk, t independent, kai kuadrat, ANOVA, uji analisis korelasi dan regresi Pearson) dan analisis multivariabel (analisis regresi logistik ganda). Pada penelitian ini didapatkan Kadar protein p53 lebih tinggi 9 kali pada KPD dibandingkan dengan kehamilan normal ($p < 0,01$) dan terdapat korelasi kuat kadar protein p53 dengan KPD. Kadar protein p53 $> 0,97$ U/mL akan berisiko lebih dari 30 kali menyebabkan KPD.

Kata kunci: protein p53, ketuban pecah dini,

Abstract

Premature rupture of fetal membrane (PROM) is a complication in pregnancy that is an important problem in obstetrics. Many theory have been explaining that cause of PROM, but the etiology is still unknown. Premature rupture of fetal membrane might be caused by apoptosis. The mechanism of PROM due to the apoptosis might cause the extracellular matrix degradation. The apoptosis is influenced by the signal from extracellular and intracellular protein. The intracellular factor is p53. This factors will cause a fetal membrane damage which induce increasing of caspase-3, so that the increasing of apoptosis in fetal membrane will cause the PROM. The present study is an observational analysis designed as a case-control study. The study was carried out in Dr. Hasan Sadikin Hospital and Central Laboratory of Medical School of Padjadjaran University. The case group consist of 81 patients of PROM selected based on appropriate acceptance and rejection criteria taken by consecutive sampling. The control group consist of 81 patients with normal pregnancies at the age of ≥ 37 – <42 weeks gestation are taken by matching technique. Basic data included protein level of p53 by ELISA. Analysis of test results was conducted using bivariable analysis (Shapiro Wilk test, independent t test, Chi-square test, ANOVA test, Pearson analysis correlation and regression test) and multivariable (multiple logistic regression test). It was found that protein level of p53 was higher ($> 9,734$ U/ml) than the normal pregnancy with $p < 0,01$. The conclusion, there is a relationship protein level of p53 in the incidence of PROM. Protein levels of p53 was $> 0,97$ U/ml would increased in the incidence of PROM more than thirty times

Key words : p53 protein, premature rupture of the membranes.

Pendahuluan

Ketuban pecah dini (KPD) adalah pecahnya selaput ketuban janin sebelum persalinan dimulai atau terjadinya kontraksi uterus yang teratur. Insidensi KPD berkisar antara 5%-15% dari seluruh kehamilan 1,2,7. Adanya variasi dalam hal insidensi disebabkan oleh karena adanya perbedaan dalam hal definisi. Hampir 95% persalinan terjadi dalam 24 jam pertama setelah KPD. Faktor-faktor yang diduga sebagai penyebab terjadinya KPD ini antara lain infeksi, apoptosis (kematian sel), hormonal, dan distensi uterus berlebihan seperti, kehamilan kembar, polihidramnion, dan anak besar (trauma).

Apoptosis adalah istilah yang digunakan sebagai sinonim dari proses kematian sel.¹⁸ Proses apoptosis sangat dipengaruhi oleh sinyal yang berasal dari protein ekstraselular dan intraselular. Faktor ekstraselular sangat dipengaruhi oleh infeksi yang telah lama dikenal sebagai pencetus KPD, sedangkan faktor intraselular diperankan oleh p53 yang merupakan suatu protein yang berperan pada proses apoptosis melalui jalur intrinsik (intraselular) melalui pengaktifan protein bax yang memacu pelepasan sitokrom c. Fungsi normal protein p53 adalah sebagai penjaga proteinom (*guardian of the proteinome*). Pada keadaan dimana jumlah protein p53 rendah maka p53 akan berperan sebagai penjaga sel, sedangkan dalam jumlah yang

tinggi p53 akan mengaktifkan apoptosis. Pada manusia, protein p53 berada pada kromosom 17p131, sedangkan pada hewan berbeda-beda lokasinya pada setiap spesies. Nama lain atau simbol dari p53 adalah TP53, LFS1, atau TRP53 (*Transformation-Related Protein-53*).

Protein p53 memiliki kemampuan dalam berbagai fungsi biologis yaitu dengan berperan sebagai faktor transkripsi sekuens-spesifik dan memodulasi berbagai proses seluler termasuk *apoptosis*, *cell cycle arrest* dan perbaikan DNA. Protein p53 *wild type* (tipe liar) dikenal sebagai faktor regulator negatif terhadap pertumbuhan sel. Protein p53 mengandung domain pengikat DNA yang dapat mengaktifasi transkripsi protein. Hal ini akan menyebabkan ekspresi dari protein spesifik yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan sel. Beberapa hal yang masih kontroversi menproteina p53 ini adalah: 1) aktivitas p53 dapat menghasilkan respons protektif seperti *cell arrest* dan DNA repair, 2) di lain pihak dapat meningkatkan apoptosis sel-sel yang mengandung DNA yang rusak, dan 3) aktivasi p53 akan menghasilkan *cell arrest* atau menginduksi apoptosis tetapi belum jelas.

Mekanisme kerja p53 belum diketahui pasti, namun terdapat dugaan bahwa p53 bekerja untuk menghambat pertumbuhan sel. Ada beberapa

hipotesis mekanisme kerja p53, yaitu: 1) p53 menproteinasi dan kemudian mengikatkan diri pada suatu *specific sequence* pada DNA yang diduga merupakan bagian tertentu yang berfungsi sebagai regulator, dan 2) p53 menginduksi aktivitas RNA polimerase, sehingga bertindak sebagai faktor transkripsi. Sel dalam keadaan normal memiliki konsentrasi protein p53 dalam keadaan inaktif. Pada keadaan kadar p53 meningkat atau teraktivasi yang antara lain dapat disebabkan oleh kerusakan DNA, hipoksia, tidak adanya faktor pertumbuhan, atau pergeseran antar sel, menyebabkan terhentinya siklus sel spesifik-G1 dan memberi waktu bagi perbaikan DNA. Peningkatan kadar p53 juga memicu apoptosis sehingga terjadi kematian sel yang rusak. Pada sel yang tidak mengalami stres, aktivasi p53 dapat menekan pertumbuhan sel tersebut atau menginduksi apoptosis dengan pengaturan yang ketat oleh MDM2. Protein MDM2 mengikat domain transaktivasi terminal-N p53 dan secara negatif mengatur fungsi supresor tumor. Umpan balik negatif ini mengatur mekanisme protein p53 dan MDM2 selalu dalam keadaan kadar yang sangat rendah pada sel yang mengalami proliferasi. Sebagai respon terhadap sel, interaksi antara p53-MDM2 terganggu yang mengakibatkan p53 mampu berasosiasi dengan faktor-faktor yang diperlukan untuk aktivasi pada protein targetnya. 16-17 Aktivasi p53 yang dicetuskan stres melibatkan modifikasi p53 post translasi pada berbagai tempat dengan fosforilasi dan asetilasi. Fosforilasi telah banyak diteliti dan dilaporkan memiliki peranan penting dalam stabilisasi dan aktivasi supresor tumor. 18,19 Tujuan dari penelitian adalah untuk mengukur perbedaan kadar protein p53 antara KPD dengan kehamilan normal.

Metode

Penelitian ini menggunakan metode pengkajian analitik komparatif dengan rancangan studi kasus kontrol (*case control study*). Ibu hamil yang mengalami KPD sebagai kasus dan yang normal sebagai kontrol pada usia kehamilan ≥ 37 -<42 minggu. Penelitian ini dilaksanakan di Bagian/SMF Obstetri dan Ginekologi FK Unpad/RS Hasan Sadikin Bandung, Laboratorium Sentral Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran Bandung dan Laboratorium Prodia Bandung. Waktu Penelitian dimulai sejak 1 Juli 2009 sampai jumlah sampel terpenuhi. Populasi sasaran adalah semua ibu hamil dengan usia kehamilan ≥ 37 -<42 minggu yang berdomisili di Kota Bandung. Populasi terjangkau adalah Semua ibu hamil dengan usia kehamilan ≥ 37 -<42 minggu yang datang ke RS dr. Hasan Sadikin (RSHS). Sampel yang dikehendaki adalah Semua ibu hamil dengan usia kehamilan ≥ 37 -<42 minggu yang datang ke RS dr. Hasan Sadikin (RSHS) yang mengalami Ketuban Pecah Dini (KPD) sesuai protokol Divisi Fetomaternal Bagian Obstetri dan Ginekologi RSHS/FKUP dijadikan sebagai kelompok kasus. Kelompok ini diambil secara *consecutive sampling* setelah memenuhi kriteria penerimaan dan kriteria penolakan. Sebagai kelompok kontrol adalah kehamilan normal (yang tidak mengalami Ketuban Pecah Dini) dan tidak ada komplikasi obstetri dan komplikasi medis lain yang diambil secara dipadankan sesuai usia kehamilan.

Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini berlangsung selama 12 bulan sejak Juli 2009 sampai dengan juni 2010. Kurun waktu tersebut digunakan untuk mengumpulkan dan

pemeriksaan sampel di RS. dr. Hasan Sadikin (RSHS) Bandung. Pemilihan subjek penelitian dilakukan secara berurutan saat datang (*consecutive admission*) dengan subjek penelitian adalah pasien yang masuk kamar bersalin Rumah Sakit Hasan Sadikin Bandung dengan usia kehamilan ≥ 37 -<42 minggu, belum inpartu dan didiagnosis mengalami ketuban pecah dini (KPD) serta *partus spontan pervaginam* dijadikan sebagai kelompok kasus, sedangkan kelompok kontrol adalah kehamilan normal (tidak mengalami KPD) *partus spontan pervaginam* atau seksio sesarea berencana.

Salah satu faktor risiko penyebab KPD adalah apoptosis selain faktor lain, seperti infeksi, hormonal, stres, dan distensi uterus yang berlebihan. Apoptosis dipengaruhi oleh faktor proteolitik dari enzim-enzimnya sendiri. Apoptosis terjadi oleh karena faktor intrinsik dan ekstrinsik. Faktor intrinsik lebih diperankan oleh protein p53. Hasil penelitian ini nilai X (SD) menunjukkan peningkatan kadar p53 (3,436 (1,774)) pada kehamilan KPD dibandingkan dengan kadar p53 (0,579 (0,252)) pada kehamilan normal (Tabel 4.1).

Tabel 4.1 Perbandingan kadar protein p53 pada kehamilan KPD dan normal

Variabel	Kehamilan		Z _{M-W}	Nilai p
	KPD (n=81)	Normal (n=81)		
1. p53 (U/mL) :				
X̄ (SD)	3,436 (1,774)	0,579 (0,252)	9,734	<0,001**
Median	3,34	0,61		
Rentang	0,17-7,78	0,03-0,97		

Keterangan: * = bermakna ($p \leq 0,05$), ** = sangat bermakna ($p \leq 0,01$); ZM-W = uji Mann-Whitney.

Selanjutnya dilakukan uji kemaknaan antara p53, TNF- α , rasio p53/TNF- α dan ekspresi kaspase-3 dengan kehamilan KPD menggunakan uji Mann-Whitney, didapatkan hubungan yang sangat bermakna dengan $p < 0,01$. Kemudian untuk menentukan *cut off point* dari hasil pemeriksaan kadar protein P53, TNF- dan rasio P53 terhadap TNF- yang dapat dipakai sebagai prediksi terjadinya KPD digunakan kurva *Receiver Operating Characteristics* (ROC) diperoleh *cut off point* untuk kadar p53 adalah $> 0,97$. Hubungan antara nilai *cut off* dengan kejadian KPD ($p < 0,01$) disajikan pada Tabel 4.2

Tabel 4.2 Hubungan antara nilai cut off kadar protein p53 dengan kejadian KPD

Variabel	Kehamilan		Nilai p	OR (95% CI)
	KPD (n=81)	Normal (n=81)		
p53				
- $> 0,97$	71 (87,6%)	2 (2,2%)	<0,001	30,5
- $\leq 0,97$	8 (9,8%)	79 (97,5%)		(25,4-64,7)

Keterangan : OR (95%CI) = Nilai odds ratio dan 95 % derajat kepercayaan (KI 95%).

Hipotesis : terdapat perbedaan kadar protein p53 pada ketuban pecah dini dibandingkan dengan kehamilan normal.

(a) Analisis: Analisis perbedaan kadar protein p53 antara KPD dibandingkan dengan kehamilan normal seperti yang ditampilkan pada Tabel 4.1. Pada kelompok KPD rata-rata kadar protein p53 3,436 (SD:1,774) sedangkan pada kelompok kehamilan normal rata-rata adalah 0,579 (SD:0,252). Pada *cut off* $> 0,97$ U/ml terdapat pada 73 kasus (90,1%) pada KPD dan 81 kasus (100%) pada kehamilan normal.

(b) Pengujian: Pengujian statistik dilakukan dengan uji Mann-Whitney pada derajat kepercayaan 95% dengan hipotesis H0: tidak terdapat peningkatan kadar protein p53 antara KPD dibandingkan dengan kehamilan normal dan H1: terdapat peningkatan kadar protein p53 antara KPD dibandingkan dengan

kehamilan normal. Dari hasil analisis statistik terdapat peningkatan kadar protein p53 antara KPD dibanding-kan dengan kehamilan normal dengan nilai ZM-W = 9,734 dan $p < 0,001$.

(c) Simpulan: Terdapat peningkatan kadar protein p53 antara penderita KPD dibandingkan dengan kehamilan normal. Hipotesis diterima.

Protein p53 memainkan peranan sebagai faktor transkripsi. Faktor transkripsi adalah protein yang berperan mengatur jumlah protein yang muncul. Protein ini bekerja dengan cara berikatan pada daerah DNA spesifik. Faktor transkripsi memerlukan binding site suatu kompleks protein yang disebut *transcriptional machinery*, DNA tersebut memiliki respon untuk mensintesis RNA dan bila RNA dapat disintesis maka akan ditranslasi menjadi protein. Kerusakan DNA akan memberikan sinyal kepada p53 sehingga p53 kadarnya meningkat.

Protein p53 merupakan protein yang bekerja sebagai supresor tumor dan dilaporkan pula berperan sebagai *regulator proses angioproteinesis*. Bila terjadi perubahan peran p53 melalui jalur *hypoxia inducible factor 1 α* (Hif1 α) dan *vascular endothelial growth factor* (VEGF), maka *proses angioproteinesis* akan terganggu. Saat ini dikenal bahwa protein p53 merupakan mediator kehamilan oleh karena perannya sebagai aktivasi *estrogen* dan *progesteron*. Hormon tersebut disimpan di dalam kelenjar endokrin dan disekresikan ke dalam sirkulasi apabila diperlukan. Selain hormon, protein regulator pertumbuhan berupa polipeptida yang dihasilkan parakrin juga dapat bekerja sebagai indikator pada jaringan sekitarnya. Sel dapat mensekresikan protein yang juga dapat berikatan dengan reseptor pada permukaan sel sendiri yang disebut autokrin. Faktor pertumbuhan dalam sel merupakan unsur penting dalam mengatur proliferasi dan diferensiasi serta fungsi sel-sel hematopoetik termasuk sel-sel imun. Faktor pertumbuhan tersebut menyampaikan sinyal melalui pengikatan reseptor, kemudian meneruskan sinyal ini melalui berbagai proses biokimiawi intrasel ke nukleus. Proses ini disebut transduksi sinyal. Bila terjadi kelainan dalam jalur ini terjadi stimulasi berlebihan dan faktor ini dapat dideteksi dalam darah dengan pemeriksaan protein.

Protein p53 dapat melindungi sel dari kerusakan DNA serta memberi sinyal kepada DNA untuk memperbaikinya. Inaktivasi atau kehilangan p53 dapat mengakibatkan gangguan keseimbangan proteinetik. Bertambahnya jumlah p53 sebagai respon terhadap berbagai sinyal seperti kerusakan DNA, terhentinya sintesis DNA atau RNA atau apabila tidak terdapat nukleotida (depletion), rangsangan yang sama juga mengaktifkan p53 tanpa adanya rangsangan stres yang biasanya laten. Adanya respon terhadap sinyal stres seperti kerusakan DNA akan meningkatkan konsentrasi p53 dan juga menginduksi transkripsi beberapa ratus protein yang berperan dalam menghambat siklus sel dan perbaikan DNA. Apabila kerusakan DNA terbukti tidak bisa diperbaiki, hal ini akan mencetuskan apoptosis yaitu berjalannya program kematian sel.

Tahap terakhir dari apoptosis adalah eksekusi yang terjadi melalui aktivasi enzim kaspase yang merupakan eksekutor utama dari apoptosis. Pada prinsipnya terdapat dua tahap inisiasi apoptosis yaitu: jalur ekstrinsik (*death receptor pathway*) dan jalur intrinsik (*mitochondria pathway*), kedua jalur ini mengaktifkan kaspase.

Usia kehamilan 37 - 42 minggu menunjukkan indeks apoptosis yang tinggi. Kataoka mengemukakan bahwa rasio apoptosis tertinggi terdapat pada penderita

korioamnionitis dan KPD. Peningkatan apoptosis pada amnion lebih berhubungan dengan patofisiologi KPD dibandingkan dengan efek dari KPD tersebut. Peningkatan apoptosis pada *selaput amnion* berperan penting pada penipisan membran janin yang mengakibatkan terjadinya KPD. Peningkatan p53 akan meningkatkan munculnya kaspase-3 yang akan menyebabkan apoptosis yang berlebihan, sehingga dengan adanya peningkatan proses *apoptosis* ini dapat menyebabkan terjadinya KPD.

Simpulan

- Kadar protein p53 pada selaput amnion lebih tinggi pada kehamilan dengan KPD dibandingkan dengan kehamilan normal.
 - Terdapat korelasi positif antara kadar protein p53 dengan kejadian KPD
 - Kadar protein p53 >0,97 U/mL berisiko lebih dari 30 kali menyebabkan KPD
- Perlu dilakukan penelitian untuk mencari bahan atau cara untuk menghalangi peningkatan kadar protein p53 pada wanita hamil.

Daftar Pustaka

- Medina TM, Hill DA. *Preterm premature rupture of membranes. Diagnosis and management*. www.aafp.org/afp
- Chan PD, Johnson SM. *Current clinical strategies gynecology and obstetrics*. California: Laguna Hills; 2006.
- Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, Hauth JC, Gilstrap III, Wenstrom KD. *Parturition*. Dalam: *Williams obstetrics*. Edisi ke-22. Connecticut: McGraw-Hill 2005. hlm. 151-86.
- Robinson JS, Svigos JM. *Prelabor rupture of the membranes*. Dalam: *High risk pregnancy management options*. Edisi ke-2. London: WB Saunders; 2000. hlm. 1015-24.
- Garite TJ. *Premature rupture of the membranes*. Dalam: *Maternal-fetal medicine principle and practice*. Edisi ke-5. Philadelphia: Saunders; 2004. hlm. 723-39.
- Arias F. *Practical guide to high risk pregnancy and delivery*. Edisi ke-2. Mosby Year Book; 1993.
- Johnson JW, Daikoku NH, Niebyl JR, Johnson TR Jr, Khouzami VA, Witter FR. *Premature rupture of the membranes and prolonged latency*. *Obstet Gynecol*. 1981;57:547-56.
- Dale PO, Tanbo T, Bendvold E, Moe N. *Duration of the latency period in preterm premature rupture of the membranes: maternal and neonatal consequences of expectant management*. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1989;30:257-62.
- Meis PJ, Ernest JM, Moore ML. *Causes of low birth weight births in public and private patients*. *Am J Obstet Gynecol* 1987;156:1165-8.
- Bilic G. *Sealing and healing of fetal membranes*. (Dissertation PhD). Zurich: Departement of Obstetrics, University Hospital of Zurich, Switzerland. 2005.
- Mercer BM, Arheart KL. *Antimicrobial therapy in expectant management of preterm premature rupture of the membranes*. *Lancet*. 1995;346:1271-9.
- Casey ML, MacDonald PC. *Interstitial collagen synthesis and processing in human amnion: a property of the mesenchymal cells*. *Biol Reprod*. 1996;55:1253-60.
- Malak TM, Ockleford CD, Bell SC, Dalgleish R, Bright N, Macvicar J. *Confocal immunofluorescence localization of collagen types I, III, IV, V, and VI and their ultrastructural organization in term human fetal membranes*. *Placenta*. 1993;14:385-406.
- Kroemer G, Zamzami N, Susin SA. *Mitochondrial control of apoptosis*. *Immunol Today*. 1997;18:44-51.
- Lavery JP, Miller CE, Knight RD. *The effect of labor on the rheologic response of chorioamniotic membranes*. *Obstet Gynecol*. 1982;60:87-92.
- Al-Zaid NS, Bou-Resli MN, Goldspink G. *Bursting pressure and collagen content of fetal membranes and their relation to premature rupture of the membranes*. *Br J Obstet Gynaecol*. 1980;87:227-9.
- Malak TM, Bell SC. *Structural characteristics of term human fetal membranes: a novel zone of extreme morphological alteration within the rupture site*. *Br J Obstet Gynaecol*. 1994;101:375-86.
- Savitz DA, Blackmore CA, Thorp JM. *Epidemiologic characteristics of preterm delivery: etiologic heterogeneity*. *Am J Obstet Gynecol*. 1991;164:467-71.
- American College of Obstetricians and Gynecologists. *Premature rupture of membranes. Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists*. ACOG practice bulletin no.1. *Intern J Gynaecol Obstet*. 1998;63:75-84.