

**ARAS ENDOTELIN-1, OKSIDA NITRIK DAN AKTIVITI SINTASE OKSIDA
NITRIK DI DALAM TISU FETOPLASENTA DARIPADA WANITA YANG
MENGIHADAP PRE-EKLAMPSIA**

Oleh

WAN MALIHAN WAN ALI

Tesis yang diserahkan untuk memenuhi
keperluan bagi Ijazah Sarjana Sains
(Jabatan Fisiologi)

Julai 2004

PENGHARGAAN

Alhamdulillah, syukur kepada Allah kerana tesis ini akhirnya telah dapat disiapkan. Di sini saya ingin mengambil kesempatan untuk merakamkan penghargaan saya kepada Profesor Harbindar Jeet Singh dan Profesor Mohd Nizam Isa, selaku penyelia saya yang telah memberi tunjuk ajar dan nasihat yang berguna sehingga dapat menyiapkan tesis ini.

Saya juga mengucapkan setinggi-tinggi terima kasih kepada kakitangan perubatan dan kejururawatan di Bilik Bersalin, Hospital Universiti Sains Malaysia, yang telah bersusah-payah membantu saya dalam pengambilan spesimen bagi kajian saya. Saya juga terhutang budi kepada Juruteknologi Makmal Perubatan Jabatan Fisiologi, Universiti Sains Malaysia, terutama sekali Puan Asiah Abu Bakar dan Cik Aminah Che Romli yang banyak membantu saya sepanjang kajian ini dibuat, Encik Mohamad Ros Sidek serta kakitangan-kakitangan Pusat Genom Manusia, Universiti Sains Malaysia yang lain yang telah memberi bantuan dan tunjuk ajar sehingga saya dapat membiasakan diri dalam menjalankan tugas yang diperlukan demi menyelesaikan tesis ini. Terima kasih juga kepada semua pensyarah dan kakitangan Jabatan Fisiologi, Universiti Sains Malaysia atas sokongan dan sumbangan mereka.

Tidak lupa juga kepada kedua ibu bapa saya, anak-anak saya, Harith Farhan, Firdaus Ieman dan Ilya Zetasya, serta suami saya, Dr Mazlan Ismail, terima kasih di atas kesabaran, serta dorongan dan sokongan yang telah diberikan.

PEMBENTANGAN HASIL KAJIAN INI

Pembentangan oral:

- 1) Tajuk kertas kerja: Expression of endothelin-1 gene in fetoplacental tissues from normotensive pregnant women and women with pre-eclampsia.

Tempat: 18th Malaysian Society of Pharmacology and Physiology (MSPP)
Scientific Meeting,
Hospital Universiti Kebangsaan Malaysia,
Kuala Lumpur.

Pada: 28 – 29hb. April, 2003.

- 2) Tajuk kertas kerja: Levels of endothelin-1 and nitric oxide in fetoplacental tissues from women with pre-eclampsia.

Tempat: 9th National Conference on Medical Sciences,
Pusat Pengajian Sains Perubatan,
Universiti Sains Malaysia,
Kelantan.

Pada: 24 – 25hb. Mei, 2004.

Pembentangan poster:

1) Tajuk kertas kerja: Level of nitric oxide and nitric oxide synthase activity in fetoplacental tissues from women with pre-eclampsia.

Tempat: 19th Malaysian Society of Pharmacology and Physiology (MSPP)
Scientific Meeting,
University Malaya,
Kuala Lumpur.

Pada: 17 – 18hb. Mei, 2004.

Penerbitan:

W.A. Wan Malihah, H.J. Singh, I. Mohd Nizam, A.B. Asiah, C.R. Aminah. Expression of endothelin-1 gene in feto-placental tissues from normotensive pregnant women and women with pre-eclampsia. *Asia Pacific Journal of Pharmacology (in press)*.

JADUAL KANDUNGAN

	Mukasurat
Penghargaan	ii
Pembentangan hasil kajian ini	iii
Jadual kandungan	v
Senarai jadual	x
Senarai rajah	xi
Senarai singkatan perkataan	xiv
Abstrak	xv
BAB 1 PENGENALAN	1
BAB 2 FISILOGI ENDOTELIN	4
2.1 Pengenalan	4
2.2 Struktur endotelin	4
2.3 Sintesis endotelin	6
2.4 Mekanisme tindakan	7
2.5 Reseptor dan kesan	10
2.6 Pengawalaturan dan ekspresi reseptor ET-1	11
BAB 3 FISILOGI OKSIDA NITRIK	14
3.1 Pengenalan	14

3.2	Biokimia, biosintesis dan pembebasan NO	15
3.3	Mekanisme tindakan NO	17
BAB 4 HIPERTENSI KEHAMILAN DAN PRE-EKLAMPSIA		19
4.1	Definisi hipertensi kehamilan	19
	4.1.1. Definisi hipertensi	20
	4.1.2. Definisi proteinuria	21
4.2	Klasifikasi hipertensi kehamilan	21
	4.2.1 Klasifikasi ISSHP	23
BAB 5 ETIOLOGI PRE-EKLAMPSIA		24
5.1	Umur	24
5.2	Pariti	25
5.3	Tempoh gestasi	25
5.4	Status sosial	26
5.5	Kumpulan etnik	26
5.6	Pengaruh genetik	27
5.7	Obesiti	28
5.8	Hipokalsemia	28
5.9	Merokok	29
5.10	Faktor-faktor lain	30
BAB 6 PATOGENESIS PRE-EKLAMPSIA		31
6.1	Hipoperfusi plasenta	31
6.2	Defek plasentasi	33

6.2.1	Faktor genetik	37
6.2.2	Maladaptasi imun	38
6.2.3	Ketidakseimbangan faktor perantara vaskular di plasenta	40
6.2.3.a	Hubungan ET-1, NO dan pre-eklampsia	41
6.3	Disfungsi sel endotelia	43
6.4	Faktor/faktor-faktor	46
BAB 7	BAHAN DAN KAEDAH	50
7.1	Subjek	50
7.2	Spesimen yang diambil	51
7.3	Protokol Kajian	53
7.4	Pengendalian spesimen	53
7.5	Pengukuran aras ET-1, NO dan aktiviti NOS	53
7.5.1	Ujian RIA bagi mengukur aras ET-1	54
7.5.2	Ujian pengukuran aras NO	56
7.5.3	Ujian pengukuran aktiviti NOS	57
7.6	Penganalisaan gen ET-1	59
7.6.1	Pemencilan RNA total dari tisu	62
7.6.2	Pengukuran kepekatan dan ketulenan RNA total	64
7.6.3	Penentuan integriti RNA	65
7.6.4	Proses RT-PCR	66
7.6.5	Penjjukan DNA	68
7.7	Analisis statistik	68

BAB 8	KEPUTUSAN	71
8.1	Biodata subjek	71
8.2	Aras ET-1 dalam amnion, korion dan koteledon plasenta	80
8.3	Aras NO dalam amnion, korion dan koteledon plasenta	87
8.4	Perhubungan antara aras ET-1 dan NO	89
8.5	Aktiviti NOS pada amnion, korion dan koteledon plasenta	93
8.6	Ekspresi gen ET-1	95
BAB 9	PERBINCANGAN	102
9.1	Umur ibu, gravida, berat ibu, tekanan darah sistolik dan diastolik, tempoh gestasi, berat bayi dan berat plasenta	102
9.2	Kepekatan ET-1 dan ekspresi gen ET-1	112
9.3	Aras NO dan aktiviti NOS	121
9.4	Nisbah kepekatan dan korelasi NO dan ET-1	126
BAB 10	KESIMPULAN	129
BIBLIOGRAFI		134

LAMPIRAN-LAMPIRAN

Lampiran A	1
Lampiran B	2
Lampiran C	3
Lampiran D	5
Lampiran E	6
Lampiran F	7
Lampiran G	8
Lampiran H	10
Lampiran I	12
Lampiran J	14
Lampiran K	18
Lampiran L	20

SENARAI JADUAL

JADUAL		Mukasurat
Jadual 2.1	Faktor-faktor yang mempengaruhi sintesis ET-1	8
Jadual 2.2	Antagonis ET-1	13
Jadual 7.1	Penyediaan piawai S0 hingga S7	57
Jadual 8.1.1	Biodata subjek secara keseluruhan bagi NTPW dan PE	71
Jadual 8.1.2	Tempoh gestasi, berat bayi dan berat plasenta bagi NTPW dan PE secara keseluruhan	73
Jadual 8.1.3	Berat bayi dan berat plasenta bagi kes-kes PE berhubung dengan masa permulaan PE dikesan	74
Jadual 8.1.4	Protein urin	79

SENARAI RAJAH

RAJAH		Mukasurat
Rajah 2.1	Struktur Endotelin-1	5
Rajah 2.2	Sintesis ET-1	9
Rajah 2.3	Kesan tindakan ET-1 pada reseptor-reseptor di sel endotelia dan otot licin vaskular	12
Rajah 6.1	Patogenesis pre-eklampsia	32
Rajah 6.2	Pencerobohan trofoblas pada arteri spiral	35
Rajah 7.1	Gambar menunjukkan bahagian-bahagian amnion, korion dan koteledon plasenta	52
Rajah 7.2	Penghasilan metabolit NO	56
Rajah 7.3	Penghasilan NO dari L-arginina	58
Rajah 7.4	Langkah-langkah bagi penganalisaan gen ET-1	61
Rajah 7.5	Ringkasan bagi pengendalian spesimen	70
Rajah 8.1.1	Berat bayi dalam NTPW, wanita yang mendapat PE awal dan wanita yang mendapat PE lewat	75
Rajah 8.1.2	Tekanan darah sistolik dan diastolik bagi NTPW dan PE secara keseluruhan	76
Rajah 8.1.3	Tekanan darah sistolik dan diastolik bagi kumpulan PE berhubung dengan masa permulaan PE dikesan	77
Rajah 8.1.4	Tekanan darah sistolik dan diastolik bagi pesakit PE dalam kes-kes primigravida dan multigravida	78

Rajah 8.2.1	Kepekatan ET-1 dalam amnion, korion dan koteledon plasenta dari pesakit PE dan NTPW secara keseluruhan	80
Rajah 8.2.2	Kepekatan ET-1 di amnion, korion dan koteledon plasenta bagi kes-kes PE berhubung dengan masa permulaan PE dikesan	81
Rajah 8.2.3	Kepekatan ET-1 di amnion, korion dan koteledon plasenta bagi NTPW, wanita yang mendapat PE awal dan wanita yang mendapat PE lewat	82
Rajah 8.2.4	Korelasi aras ET-1 pada koteledon plasenta dan korion daripada NTPW dan PE	83
Rajah 8.2.5	Korelasi aras ET-1 pada koteledon plasenta dengan tekanan darah diastolik dari NTPW dan PE	85
Rajah 8.3.1	Kepekatan NO di amnion, korion dan koteledon plasenta daripada pesakit PE dan NTPW secara keseluruhan	87
Rajah 8.3.2	Kepekatan NO di amnion, korion dan koteledon plasenta berhubung dengan masa permulaan PE dikesan	88
Rajah 8.4.1	Nisbah NO dan ET-1 dalam amnion, korion dan koteledon plasenta daripada kumpulan NTPW dan PE	89
Rajah 8.4.2	Nisbah kepekatan NO:ET-1 dalam amnion, korion dan koteledon plasenta berhubung dengan masa permulaan PE dikesan	90
Rajah 8.4.3	Korelasi ET-1 dan NO dalam koteledon plasenta, korion dan amnion daripada kumpulan PE	92

Rajah 8.5.1	Aktiviti NOS dalam amnion, korion dan koteledon plasenta daripada kumpulan NTPW dan PE	93
Rajah 8.5.2	Aktiviti NOS dalam amnion, korion dan koteledon plasenta mengikut masa permulaan PE dikesan	94
Rajah 8.6.1	Analisis elektroforesis gel agarosa RNA total yang dipencil dari amnion, korion dan koteledon plasenta	95
Rajah 8.6.2	Analisis elektroforesis gel agarosa cDNA ET-1 dari tisu amnion, korion dan koteledon plasenta	97
Rajah 8.6.3	Keputusan penjujukan DNA dengan menggunakan primer 'forward'	98
Rajah 8.6.4	Keputusan penjujukan DNA dengan menggunakan primer 'reverse'	99
Rajah 8.6.5	Jujukan gen ET-1 dan kedudukan primer	100

SENARAI SINGKATAN PERKATAAN

DBP	Tekanan darah diastolik (diastolic blood pressure)
DNA	Asid deoksiribonukleik (deoxyribonucleic acid)
ECE	Enzim penukar endotelin (endothelin converting enzyme)
EDE	Enzim degradasi endotelin (endothelin degradant enzyme)
EDRF	<i>Endothelium derived relaxing factor</i>
ET	Endotelin
IUGR	Rencatan tumbesaran intrauterus (intra uterine growth retardation)
LBW	Berat semasa lahir yang rendah (low birth weight)
LGA	Besar bagi umur gestasi (large for gestational age)
mRNA	Pengutus asid ribonukleik (messenger ribonucleic acid)
NO	Oksida nitrik (nitric oxide)
NOS	Sintase oksida nitrik (nitric oxide synthase)
NTPW	Wanita hamil normal (normotensive pregnant women)
PE	Pre-eklampsia (pre-eclampsia)
PGI ₂	Prostasiklin (prostacyclin)
SBP	Tekanan darah sistolik (systolic blood pressure)
SGA	Kecil bagi umur gestasi (small for gestational age)
TXA ₂	Tromboksan A ₂

ABSTRAK

Patogenesis bagi pre-eklampsia masih tidak difahami sepenuhnya. Namun terdapat bukti yang mencadangkan keabnormalan plasenta menyumbang kepada kekurangan fungsi plasenta dalam pre-eklampsia. Hipotesis dibuat mengenai ketidakseimbangan faktor vasomotor dalam plasenta wanita yang menghidap pre-eklampsia. Oleh itu tujuan kajian ini adalah untuk memastikan sama ada terdapat perbezaan dalam aras endotelin-1 (ET-1), oksida nitrik (NO) dan aktiviti sintase oksida nitrik (NOS) di antara tisu fetoplasenta daripada wanita hamil normal (NTPW) dan wanita yang menghidap pre-eklampsia (PE). Di samping itu, ekspresi gen ET-1 di dalam tisu tersebut juga diperiksa untuk melihat sama ada ET-1 dihasilkan di semua tisu tersebut.

Supernatan homogenat amnion, korion dan koteledon plasenta, melalui kelahiran vagina yang normal daripada 12 wanita hamil normal dan 12 wanita yang menghidap pre-eklampsia, diukur aras ET-1, NO dan NOS. Aras ET-1 diukur menggunakan teknik radioimunoasai (RIA) manakala NO dan NOS menggunakan teknik tindakbalas Griess. Untuk mengesan ekspresi gen ET-1, pemencilan RNA dan proses transkripsi berbalik-tindakbalas rantaian polimerase (RT-PCR) dijalankan.

Tiada perbezaan yang signifikan dalam aras ET-1 dalam amnion di antara dua kumpulan tersebut. Namun, aras ET-1 dalam korion dan koteledon plasenta adalah lebih tinggi secara signifikan dalam tisu yang diambil daripada wanita yang menghidap pre-eklampsia berbanding dengan wanita hamil normal ($p < 0.05$). Apabila

dikategorikan pula kepada wanita yang menghidap pre-eklampsia awal (<34 minggu) dan yang menghidap pre-eklampsia lewat (≥ 34 minggu), didapati aras ET-1 dalam plasenta daripada wanita yang menghidap pre-eklampsia awal (<34 minggu) adalah lebih tinggi secara signifikan berbanding dengan tisu daripada mereka yang menghidap pre-eklampsia lewat (≥ 34 minggu) ($p < 0.05$). Terdapat korelasi yang signifikan dalam aras ET-1 di antara korion dan koteledon plasenta wanita yang menghidap pre-eklampsia ($p < 0.05$), tetapi tiada korelasi yang signifikan di antara amnion dan korion serta di antara amnion dan koteledon plasenta dalam kedua-dua kumpulan tersebut. Gen ET-1 hanya diekspresi di koteledon plasenta, tetapi tidak pada amnion dan korion dalam kedua-dua kumpulan tersebut. Tiada perbezaan yang signifikan dalam aras NO atau aktiviti NOS di amnion, korion dan koteledon plasenta daripada wanita hamil normal dan wanita yang menghidap pre-eklampsia. Tiada korelasi yang signifikan di antara aras ET-1 dan NO dalam koteledon plasenta dalam kedua-dua kumpulan tersebut. Nisbah NO:ET-1 adalah lebih rendah sedikit di koteledon plasenta daripada wanita yang menghidap pre-eklampsia.

Keputusan kajian kami menunjukkan bahawa ET-1 adalah lebih tinggi secara signifikan di dalam korion dan koteledon plasenta daripada wanita yang menghidap pre-eklampsia berbanding dengan wanita hamil normal. Tempat utama sintesis ET-1 adalah plasenta. Di samping itu, ET-1 adalah lebih tinggi secara signifikan di plasenta wanita yang menghidap pre-eklampsia awal, mencadangkan patogenesis pre-eklampsia yang heterogenus. Ketiadaan perbezaan yang signifikan dalam aras NO dan aktiviti NOS di antara tisu daripada kedua-dua kumpulan tersebut dan nisbah NO:ET-1 yang agak rendah sedikit dalam tisu daripada wanita yang menghidap pre-eklampsia menunjukkan aktiviti vasokonstriksi yang lebih di plasenta wanita yang menghidap pre-eklampsia.

Ini mungkin pada tahap tertentu bertanggungjawab terhadap kekurangan fungsi plasenta dalam pre-eklampsia.

**LEVELS OF ENDOTHELIN-1, NITRIC OXIDE AND NITRIC OXIDE
SYNTHASE ACTIVITY IN FETOPLACENTAL TISSUES FROM WOMEN
WITH PRE-ECLAMPSIA**

ABSTRACT

The pathogenesis for pre-eclampsia remains incompletely understood but overwhelming evidence points to the presence of a placental abnormality contributing to placental insufficiency in pre-eclampsia. An imbalance of vasomotor factors in the placenta of women with pre-eclampsia is hypothesised. The aim of the study was to ascertain if there was any difference in the levels of endothelin-1 (ET-1), nitric oxide (NO) and nitric oxide synthase (NOS) activity between feto-placental tissues from normotensive pregnant women (NTPW) and women with pre-eclampsia (PE). In addition, the genetic expression of ET-1 in these tissues was also examined to see if ET-1 was expressed in all these tissues.

Supernatants of homogenates from fresh, vaginally delivered amnion, chorion, and placental cotyledon from 12 normotensive and 12 pre-eclamptic women were measured for ET-1, NO and NOS. ET-1 levels were measured using radioimmunoassay (RIA) whereas NO and NOS were measured using the Griess reaction technique. For the detection of ET-1 gene expression, RNA isolation and reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) were carried out.

There was no significant difference in the ET-1 levels in the amnion between the two groups. However, mean ET-1 levels in the chorion and placental cotyledon were significantly higher in placentae from women with PE when compared to its levels in similar tissues from NTPW ($p<0.05$). When the women with PE were divided into those women with early onset PE (<34 weeks) and those with late onset PE (≥ 34 weeks), it was found that levels of ET-1 in the placental tissues from women with early onset PE (<34 weeks) were significantly higher than those in tissues from women with late onset PE (≥ 34 weeks) ($p<0.05$). There was a significant correlation between ET-1 levels in the chorion and placental cotyledon of women with PE ($p<0.05$) but no significant correlation was evident between ET-1 levels in the amnion and the chorion or between amnion and placental cotyledon in either of the groups. ET-1 gene expression was only evident in the placental cotyledon, but not in the amnion and chorion in either of the groups. There was no significant difference in the levels of NO or in the activity of NOS between the amnion, chorion and placental cotyledon from NTPW or PE or between corresponding tissues from both the groups. There was also no significant correlation between the levels of ET-1 and NO in the placental cotyledon in either of the groups. The NO:ET-1 ratio was slightly lower in placental cotyledon from women with PE.

Our observations appear to suggest that ET-1 is significantly elevated in the chorion and placental tissues from women with pre-eclampsia when compared to similar tissues from normotensive women. The principle site of ET-1 synthesis is the placenta. In addition, ET-1 is significantly higher in the placenta of women with early-onset pre-eclampsia, suggesting of a heterogenous pathogenesis of pre-eclampsia. The absence of any significant difference in NO or NOS activity between tissues from both the groups,

and a slightly lower NO:ET-1 ratio in tissues from women with PE suggest a preponderance of vasoconstrictor activity in the intra-placental milieu of women with PE. This may, to an extent, be responsible for the hypothesised placental insufficiency in PE.

BAB 1

PENGENALAN

Hipertensi adalah satu komplikasi yang sering berlaku ketika kehamilan dan merupakan penyebab utama mortaliti dan morbiditi pada ibu dan fetus. Risiko ibu dan fetus meningkat dengan signifikan dalam kes hipertensi yang disertai dengan proteinuria (Barton *et al.*, 2001). Keadaan ini digelar pre-eklampsia (PE) dan berlaku pada 6 ke 8% wanita hamil (Zuspan, 1991).

Pre-eklampsia adalah masalah hipertensi yang unik pada wanita hamil. Ia telah mula disebut lebih 100 tahun dahulu dan merupakan masalah pelbagai sistem, menghasilkan proteinuria, edema, iritabiliti sistem saraf pusat, keabnormalan koagulasi atau keabnormalan fungsi hepar dan renal. Ia juga meningkatkan risiko hipertensi esensial dan strok (Wilson *et al.*, 2003) serta penyakit arteri koronari (Haukkamaa *et al.*, 2004) di kemudian hari.

Sehingga kini tiada terapi yang spesifik untuk mencegah penyakit ini. Rawatan terkini bagi pre-eklampsia adalah berfokus pada perawatan gejala serta kelahiran awal, yang akan meningkatkan risiko kelahiran secara pembedahan dan kelahiran bayi pramatang. Walaupun banyak yang telah diketahui tentang etiologi pre-eklampsia dan penyelidikan yang meluas telah dan sedang dijalankan, namun etiologi dan patogenesis bagi pre-eklampsia masih belum difahami sepenuhnya.

Ciri-ciri utama bagi patogenesis pre-eklampsia dipercayai seperti berikut:

- a) kegagalan plasentasi atau pencerobohan (invasion) sitotrofoblas di arteri spiral
- b) tindakbalas inflamasi yang berlebihan
- c) disfungsi atau pengaktifan sel endotelia.

Punca sebenar kegagalan plasentasi masih belum diketahui tetapi beberapa kemungkinan atau hipotesis telah dibuat, iaitu penglibatan beberapa faktor seperti faktor genetik, maladaptasi imun dan ketidakseimbangan faktor vasomotor di plasenta.

Kegagalan plasentasi dan/atau ketidakseimbangan faktor vasoaktif tersebut akan menyebabkan kekurangan atau masalah perfusi plasenta dan seterusnya iskemia plasenta. Ini akan menyebabkan pembebasan faktor atau faktor-faktor daripada plasenta (Baker *et al.*, 1995b; Brockelsby *et al.*, 2000) ke sirkulasi ibu, menghasilkan disfungsi endotelia secara menyeluruh (Gilabert *et al.*, 1999; Kuscu, 2003; Wang *et al.*, 2004) dan kemungkinan juga tindakbalas inflamasi yang berlebihan.

Sehingga kini masih kekurangan kajian terhadap faktor vasoaktif di plasenta. Faktor tersebut mungkin memainkan peranan penting dalam mengawal aliran darah di plasenta memandangkan plasenta tidak mempunyai sistem penyarafan yang tersendiri (Reilly & Russell, 1977; Khong *et al.*, 1997). Ketidakseimbangan faktor vasoaktif dipercayai berlaku (Walsh, 1985; Wang *et al.*, 1991) dengan peningkatan aras vasokonstriktor (Nova *et al.*, 1991; Bruno *et al.*, 1998) dan penurunan aras vasodilator (Klockenbusch *et al.*, 2000) dalam kes-kes pre-eklampsia berbanding dengan wanita hamil normal,

menghasilkan vasokonstriksi plasenta seterusnya iskemia plasenta dalam wanita tersebut.

Oleh itu, tujuan penyelidikan ini dijalankan adalah untuk mengenalpasti kehadiran faktor perantara vaskular dalam tisu plasenta. Faktor perantara vaskular tersebut akan mempengaruhi tonus salur darah di plasenta dan menyebabkan iskemia plasenta yang akan membawa kepada pre-eklampsia.

BAB 2

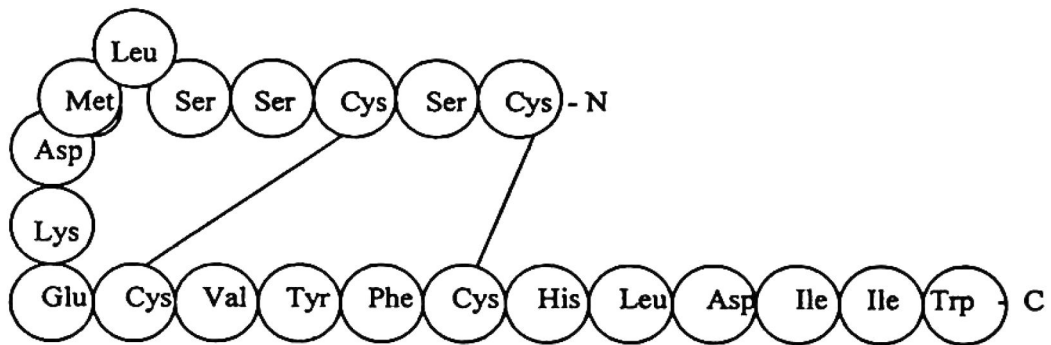
FISIOLOGI ENDOTELIN

2.1 Pengenalan

Endotelin-1 (ET-1) adalah dari kumpulan peptida vasokonstriktor. Ia mula dipencilkan di sel endotelia khinzir (Yanagisawa *et al.*, 1988). Selepas ET-1, ET-2 dan ET-3 pula ditemui. Ketiga-tiga ET ini dikodkan oleh gen yang berbeza (Inoue *et al.*, 1989a). Mereka berbeza dari segi struktur kimia dan kesannya terhadap pengecutan otot licin (Inoue *et al.*, 1989a). Di antara ketiga-tiga ET tersebut, ET-1 adalah yang paling aktif. Sebagai ET yang paling penting disintesis di sel endotelia vaskular, ia juga dihasilkan di sel otot licin vaskular. Walaupun ET-1 mula dipencilkan di endotelium vaskular, ia juga diekspresi di tisu bukan vaskular seperti otak, ginjal, paru-paru dan lain-lain (Rademaker & Espiner, 2001).

2.2 Struktur endotelin

ET-1 adalah sejenis peptida yang mempunyai 21 asid amino. Strukturnya terdiri dari 2 jambatan disulfida yang menghubungkan sistina pada kedudukan 1-15 dan 3-11 (sis 1 – sis 15 dan sis 3 – sis 11) di hujung terminal N dan sebahagian asid amino hidrofobik di hujung terminal C (Rademaker & Espiner, 2001). Ini menghasilkan bentuk ET-1 seperti lengkungan pin rambut (Rajah 2.1). Gangguan pada ikatan dan bentuk ini akan



Rajah 2.1: Struktur Endotelin-1 (Yanagisawa *et al.*, 1988)

menyebabkan pengurangan dalam aktiviti biologinya. Struktur di domain terminal N menentukan afiniti ET-1 terhadap reseptor, manakala di domain terminal C terdapat bahagian pengikat peptida tersebut kepada reseptornya.

2.3 Sintesis endotelin

Penghasilan ET dikawal ketat di peringkat transkripsi mRNA. Gen preproET-1 dilaporkan terletak pada kromosom 6 (Inoue *et al.*, 1989b). Ia mempunyai 5 akson dan 4 intron (Inoue *et al.*, 1989b). Urutan nukleotida yang mengkodkan peptida matang terletak pada akson kedua manakala bahagian 3'-*noncoding* merupakan bahagian kaya-AU yang merangsang degradasi mRNA (Inoue *et al.*, 1989b). Ini penting kerana kestabilan mRNA memainkan peranan penting dalam mengawal ekspresi gen preproET. Bahagian *upstream 5' promoter* gen ET-1 pula mempunyai turutan CAAT dan TATA yang tipikal, untuk mengawal proses transkripsi, dan beberapa elemen sis tambahan seperti elemen sis GATA-2 dan elemen sis AP-1 yang menyumbang sebagai tempat pengawalaturan stimulus penting (Inoue *et al.*, 1989b). Bahagian promoter tersebut merupakan tempat pengikatan berbagai faktor tumbesaran dan protein vaskular untuk mengawal transkripsi gen ET-1. Ekspresi gen diaruh oleh beberapa faktor seperti adrenalin, trombin, vasopresin, angiotensin II (AT-II), insulin, sitokin, faktor tumbesaran dan stimulus fizikal. *Ca-dependent protein kinase C* (PKC) juga terlibat dalam rangsangan ini. Ekspresi ET-1 berkurangan dalam kehadiran perencat PKC dan *cytosolic calcium chelators*. NO, prostasiklin (PGI₂), peptida natriuretik atria (ANP) dan heparin juga boleh mengurangkan ekspresi gen ET-1 (Rademaker & Espiner, 2001). Aliran darah pula adalah faktor fisiologi yang paling penting dalam penghasilan dan pembebasan ET-1 daripada sel endotelia. Peningkatan aliran darah akan mengaktifkan

reseptor *shear stress* di sel endotelia yang kemudiannya menyebabkan penghasilan dan pembebasan NO dan seterusnya mengurangkan penghasilan dan pembebasan ET-1 (Kuchan & Frangos, 1993). *Shear stress* adalah tekanan yang dihasilkan terhadap dinding salur darah oleh aliran darah. Jadual 2.1 menunjukkan faktor yang merangsang dan merencat bahagian promoter gen ET.

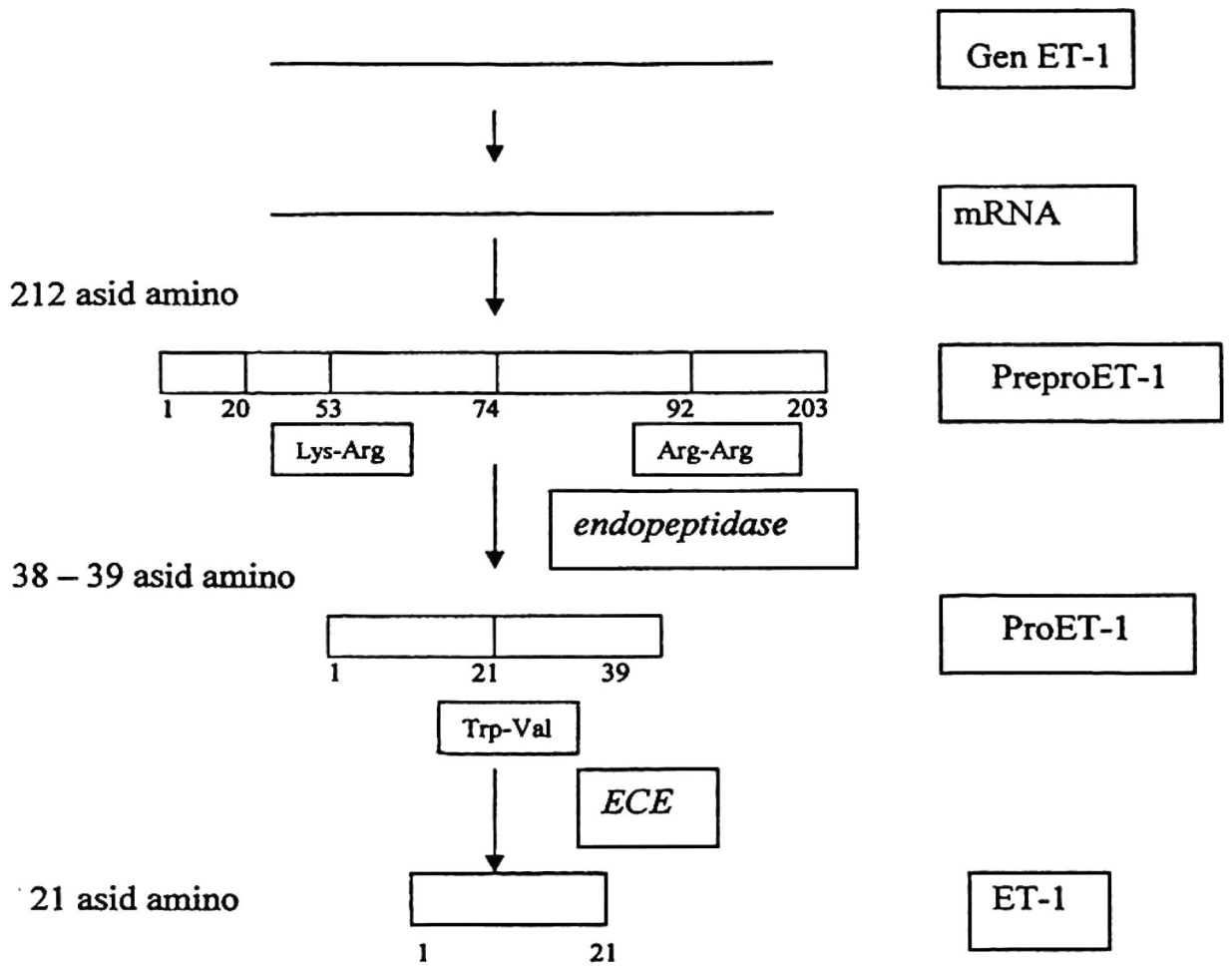
ET-1 terhasil dari proses post-translasi prohormon isopeptida spesifik yang besar, (~ 200 asid amino) melalui tindakan endopeptidase menghasilkan 38- ke 39-asid amino proendotelin. Peptida endotelin matang kemudiannya dihasilkan melalui belahan proteolitik antara Trp 21-Val 22 pada proendotelin (Rajah 2.2) (Rademaker & Espiner, 2001). Enzim penukar endotelin (ECE) yang terlibat dalam proses ini boleh didapati di sel endotelia dan permukaan sel otot licin. ECE adalah sejenis metalopeptidase dan boleh direncat oleh fosforamidon dan perencat endopeptidase lain seperti EDTA, o-fenantrolin dan dietilpirokarbonat, tetapi tidak direncat oleh *captopril*, protease yang lain dan tiorfan.

2.4 Mekanisme tindakan

Setelah dibebaskan daripada sel endotelia, ET-1 bertindak sebagai hormon parakrin, iaitu bertindak setempat di mana ia dibebaskan. ET-1 mempunyai separuh hayat yang pendek di dalam darah, iaitu di antara 4 ke 7 minit, kerana ia terikat dengan cepat pada tisu. Di samping itu, terdapat juga enzim degradasi endotelin (EDE) yang menyebabkan ia dimetabolisme dengan cepat (Mateo & de Artinano, 1997).

Faktor yang merangsang promoter gen ET	Faktor yang merencat promoter gen ET
<p><u>Hormon:</u> Adrenalin, AT-II, vasopresin, insulin, kortisol</p> <p><u>Peptida:</u> Sitokin, IL-1, TGFβ, endotoksin, endotelin</p> <p><u>Xenobiotics:</u> A23187, siklosporin</p> <p><u>Komponen darah:</u> Trombin, glukosa, oxidized LDL</p> <p><u>Stimulus fiziko-kimia:</u> Hipoksia, <i>shear stress</i> (rendah)</p>	<p>PGI2α NO ANP Heparin <i>Shear stress</i> (tinggi)</p>

Jadual 2.1: Faktor yang mempengaruhi sintesis ET-1 (diubahsuai dari Haynes & Webb, 1998)



Rajah 2.2: Sintesis ET-1 (Mateo & De Artinano, 1997)

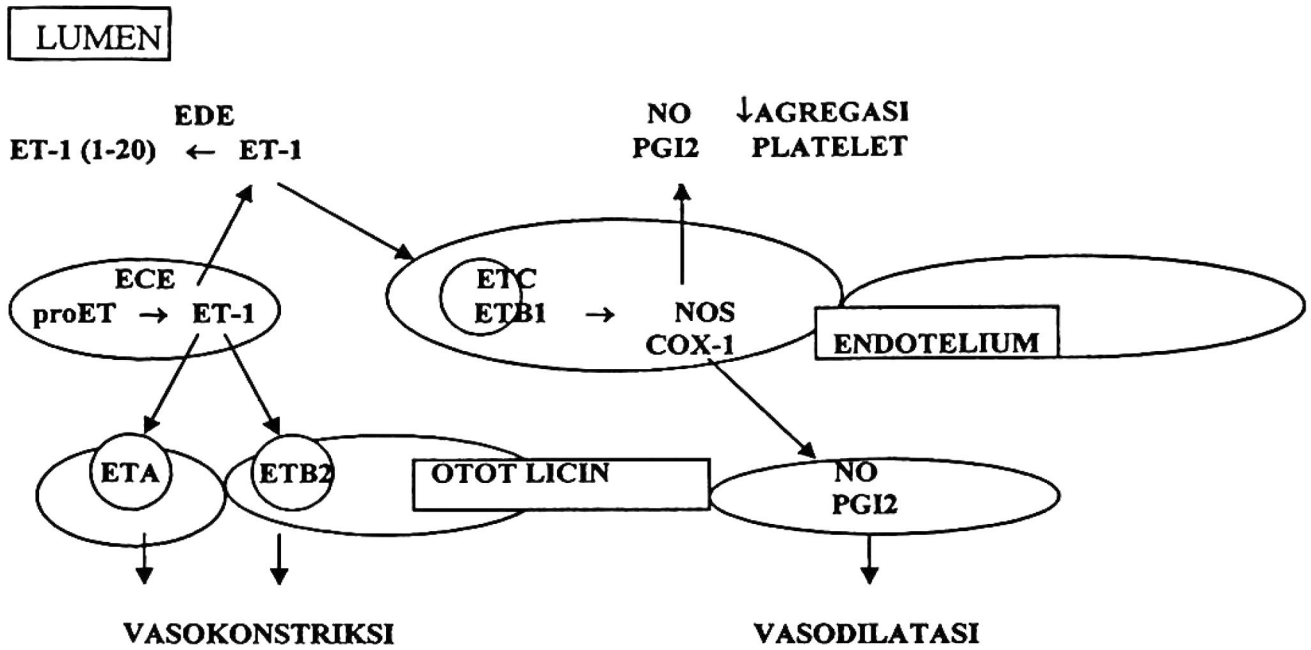
2.5 Reseptor dan kesan

Reseptor ET terdapat di otot licin vaskular dan endotelium. Tiga reseptor ET telah dikenalpasti iaitu ET-A, ET-B₁ dan ET-B₂. Afiniti ET-1 terhadap ETA adalah lebih tinggi berbanding dengan terhadap ET-2 dan ET-3. Reseptor ETB tidak menunjukkan pilihan spesifik kepada mana-mana isoform ET (Rademaker & Espiner, 2001). mRNA reseptor ET-A diekspresi di sel otot licin, manakala mRNA reseptor ET-B diekspresi dengan banyak di sel endotelia dan sel otot licin. Vasokonstriksi berlaku akibat rangsangan reseptor ET-A dan ET-B₂ di otot licin vaskular, manakala vasodilatasi pula disebabkan oleh rangsangan ET-B₁ di sel endotelia yang seterusnya menyebabkan pembebasan faktor pengendur seperti NO dan prostasiklin (PGI₂) (Rajah 2.3). Dalam keadaan fisiologi, ET-1 dikatakan bertindak sebagai vasodilator, melalui reseptor ET-B₁. Namun, dalam keadaan patologi, di mana aras ET-1 tinggi, ia dapat melintasi sel endotelia dan mengikat pada reseptor ET-A dan ET-B₂ yang terdapat di otot licin vaskular seterusnya menyebabkan vasokonstriksi. ET-1 juga menggalakkan proliferasi sel endotelia vaskular dan sel otot licin vaskular serta fibroblas. Ini mengakibatkan perubahan struktur dinding vaskular (Mateo & de Artinano, 1997).

Disebabkan oleh tindakannya, ET-1 dikaitkan dengan penyakit vaskular seperti hipertensi (Ficai *et al.*, 2001; Parissos *et al.*, 2001), iskemia jantung (Kinlay *et al.*, 2001) dan otak (Ziv *et al.*, 1992) dan penyakit renal (Ding *et al.*, 2002). Di samping itu, ia juga dikatakan menyebabkan bronkokonstriksi (Fernandes *et al.*, 1996) dan dikaitkan dengan asma dan hipertensi pulmonari (Bauer *et al.*, 2002).

2.6 Pengawalaturan dan ekspresi reseptor ET-1

Pengawalaturan sintesis reseptor ET adalah selari dengan sintesis ET. Hipoksia dan siklosporin merangsang penghasilan ET-1 di sel endotelia dan reseptor ET di sel otot licin vaskular (Levin, 1999). Faktor tumbesaran epiderma (EGF), faktor tumbesaran fibroblas asas (BFGF), cAMP dan estrogen merangsang penghasilan reseptor ETA dan faktor tumbesaran fibroblas jenis-C (c-type FGF), AT II dan BFGF merangsang penghasilan reseptor ETB. Sebaliknya, ET, AT-II, *platelet derived growth factor* (PDGF) dan *transforming growth factor β* (TGF- β) mengurangkan penghasilan reseptor ETA, dan cAMP dan katekolamin (CA) mengurangkan penghasilan reseptor ETB (Levin, 1999). ET-3 dan sarafotoxin S6c merupakan agonis yang selektif terhadap ETB berbanding dengan ETA manakala BQ 788 adalah antagonis selektif bagi ETB (Schiffrin, 1998). Beberapa antagonis bagi reseptor ET-1 yang dikenalpasti diringkaskan dalam Jadual 2.2.



Rajah 2.3: Kesan tindakan ET-1 pada reseptor di sel endotelia dan otot licin vaskular (Mateo & De Artinano, 1997)

ETA/ETB	ETA	ETB
TAK-044 Bosentan PD145065 L-744, 453 L-751281 L-754, 142 SB209670 SB217242	BQ-123 BQ-610 FR139317 IPI-725 A127722.5 LU135252 PD155080 PD156707 BMS-182874 TBC11251	BQ-788 RES-701-1 RO-468443

Jadual 2.2: Antagonis ET-1 (Schiffrin, 1998)

BAB 3

FISIOLOGI OKSIDA NITRIK

3.1 Pengenalan

Oksida nitrik (NO) adalah gas inorganik radikal bebas yang tidak stabil. Kajian awal mencadangkan bahawa mamalia boleh menghasilkan oksida nitrogen. Ini diikuti pula dengan penemuan *endothelium derived relaxing factor* (EDRF) (Furchgott & Zawadski, 1980). Mereka menunjukkan bahawa penyingkiran endotelia dari salur darah menghalang penghasilan faktor pengendur, yang digelar EDRF. Kajian selanjutnya menunjukkan bahawa EDRF adalah NO, dan penghasilannya bergantung kepada kehadiran L-arginina (Ignarro, 1989; Palmer *et al.*, 1988).

Semenjak penemuannya, NO dikatakan sebagai perantara biologi yang penting. Kesan biologi NO boleh dibahagikan kepada mengawalatur, perlindungan dan yang berkaitan dengan patogenesis beberapa penyakit seperti artritis, arteriosklerosis, kanser, diabetes, beberapa penyakit neurodegeneratif dan strok (Gross & Wolin, 1995) serta hipertensi kronik (Vallance & Collier, 1994). Tindakan NO dikatakan mengawalatur dalam mengekalkan homeostasis normal iaitu tonus salur darah, sistem imun, neurotransmisi, bronkodilatasi, dan perencatan fungsi platelet (Giustarini *et al.*, 2003). NO juga terlibat dalam beberapa tindakbalas dalam fisiologi reproduktif wanita, termasuk menstruasi dan fungsi ovari (Rosselli, 1997). Kesan perlindungan pula dikaitkan dengan

kebolehannya bertindak sebagai antioksidan di mana ia boleh menghalang agen yang menyebabkan stres oksidatif (Giustarini *et al.*, 2003).

3.2 Biokimia, biosintesis dan pembebasan NO

NO adalah radikal bebas, dengan satu elektron takberpasangan. Separuh hayat NO *in-vivo* adalah beberapa milisaat (<30 saat). Ia dioksidakan dengan cepat kepada nitrit dan nitrat (Ignarro, 1989). Dalam keadaan anaerobik, hemoglobin menyahaktifkan NO dengan mengikat kepadanya dan menghasilkan nitrosohemoglobin manakala dalam kehadiran oksigen, methemoglobin dihasilkan. NO juga senang bertindak dengan molekul lain iaitu molekul oksigen, anion superoksida (O_2^-), atau *transition metal* menghasilkan species oksida reaktif nitrogen (RNOS) seperti peroksinitrit ($ONOO^{2-}$) dan asid peroksinitros ($ONOOH$) serta *metal-nitrosyl adducts* (Stamler & Feelisch, 1996). Dalam sistem biologi, NO meresap dalam satu arah pada kadar 50 m/saat (Gally *et al.*, 1990). Dalam keadaan ini, kesan NO sepatutnya hanya dapat dilihat dalam lingkungan beberapa mikron sahaja dari tempat penghasilannya. Walau bagaimanapun, kecenderungannya untuk bertukar kepada RNOS menghalang NO daripada dinyahaktifkan dan membolehkan kesannya dibawa ke sasaran jauh (Rassaf *et al.*, 2002). NO boleh melintasi membran sel dengan senang kerana kemampuannya larut dalam air dan lipid, membolehkannya bertindak sebagai pengutus sel.

NO terhasil sebagai hasil sampingan pertukaran L-arginina kepada L-sitrulina. Peringkat awal sintesis NO adalah hidroksilasi nitrogen dalam kumpulan guanidina pada L-arginina. Langkah ini menggabungkan molekul oksigen pada NO dan L-sitrulina dan memerlukan kofaktor termasuk *reduced pyridine nucleotides*, *reduced*

biopteridines dan kalmodulin. Penghasilan NO bergantung pada aras L-arginina dan kehadiran kofaktor *in-vivo*. Proses ini dimungkinkan oleh enzim tertentu dinamakan sintase oksida nitrik (NOS) (Forstermann *et al.*, 1994).

Terdapat 3 isofom NOS iaitu NOS endotelia (NOS III, eNOS), NOS neuron atau otak (NOS I) dan NOS makrofaj atau *inducible NOS* (NOS II, iNOS). Isofom-isofom tersebut dinamakan mengikut tisu yang pertama ia ditemui. cNOS otak yang pada mulanya ditemui di tisu neuronal, kini juga didapati di otot skeletal, neutrofil, sel pankreas dan epitelia respiratori serta gastrousus. iNOS yang mulanya ditemui di sel *immunoactivated macrophage* kini terdapat di neutrofil, sel mast, sel endotelia, otot licin vaskular, otot kardiak dan hepatosit. eNOS, isofom akhir yang ditemui, mulanya dipurifikasikan dan diklon dari endotelia vaskular, kini juga didapati di miosit kardiak, platelet, otak dan tisu lain (Michel & Feron, 1997).

Sintesis NO bergantung kepada pengikatan enzim pada kalmodulin, iaitu sejenis protein yang mengawalatur kalsium. Kalsium intrasel mengikat pada kalmodulin membentuk kompleks yang penting untuk aktiviti enzim (Dinerman *et al.*, 1993). eNOS dan cNOS otak diekspresi secara konstitutif oleh sel, dan ekspresinya boleh diaruh atau ditingkatkan. Bila sel yang mengandungi eNOS dan cNOS otak dirangsang sama ada oleh asetilkolin, bradikinin, glutamat, trombin, *adenosine diphosphate*, tekanan fizikal dan *shear stress*, berlaku peningkatan dalam kalsium sitosol yang akan mengaktifkan cNOS untuk menghasilkan NO. Ekspresi iNOS pula berlaku selepas pengaktifan sel oleh stimulus termasuk endotoksin bakteria atau eksotoksin, dan perantara inflamasi termasuk sitokin TNF dan IL-1. Di samping NO, NOS boleh juga menghasilkan superoksida dalam keadaan ketiadaan L-arginina (Heinzel *et al.*, 1992). Aktiviti NOS

berkurangan akibat fosforilasi oleh protein kinase C atau A (Brune & Lapetina, 1991). NO juga boleh menghasilkan mekanisme perencanaan pada NOS melalui interaksi NO dengan kofaktor haem atau melalui fosforilasi NOS berperantarakan NO (Buga *et al.*, 1993).

3.3 Mekanisme tindakan NO

Tindakan biologi NO boleh dikategorikan kepada kesan langsung dan taklangsung. Kesan langsung terhasil dari tindakan NO sendiri dengan molekul sasaran (Ignarro, 1989) manakala kesan taklangsung disebabkan oleh tindakan RNOS dengan pelbagai species biokimia (Wink *et al.*, 1996). Kebanyakan kesan langsung NO adalah disebabkan oleh kebolehnya mengaktifkan *soluble guanylate cyclase*, iaitu sejenis enzim yang memangkinkan penghasilan *guanosine 3',5'-cyclic monophosphate* (cGMP), pengutus kedua yang merupakan perantara beberapa tindakbalas (Ignarro, 1989). NO bertindak pada moiety *haem guanylate cyclase*, mengaktifkan enzim tersebut, dan seterusnya meningkatkan kepekatan cGMP intrasel. Pengutus kedua intrasel ini kemudian mengaktifkan protein kinase yang akan menyebabkan defosforilasi rantai ringan miosin dan pengenduran otot licin (Anggard, 1994). Melalui interaksi intrasel, cGMP akan memperantarakan pengenduran otot licin, fototransduksi di retina, sekresi cecair (berkaitan enterotoksin) ke dalam usus, perencanaan agregasi platelet, dan kesan faktor natriuretik atria (ANF) pada otak dan renal (Murad, 1994).

Walau bagaimanapun, terdapat juga laluan yang tidak melibatkan cGMP (*cGMP independent pathway*) seperti tindakan terus NO dengan kumpulan haem ferrik pada sitokrom P450 atau sitokrom oksidase, juga protein berlogam yang lain, ribonukleotida

reduktase, dan *cyclooxygenase* seterusnya mempengaruhi respirasi sel, sintesis DNA dan tindakbalas imun dan inflamasi. NO juga boleh mengawal pengenduran otot licin, *cell signalling* dan fagositosis melalui pengaktifan terus oleh faktor-faktor transkripsi gen. Kesan taklangsung NO bergantung pada interaksinya dengan radikal bebas seperti anion superoksida dan thiol bebas. Tindakbalasnya dengan anion superoksida menghasilkan *toxic hydroxyl radicals* dan peroksinitrit yang terlibat dengan *host defence responses*. Interaksi NO dengan thiol akan menghasilkan derivatif S-nitrosothiol yang lebih stabil dan akan memanjangkan kesan NO *in vivo* (Giustarini *et al.*, 2003).

BAB 4

HIPERTENSI KEHAMILAN DAN PRE-EKLAMPSIA

Definisi dan klasifikasi yang tepat bagi hipertensi kehamilan adalah penting dalam menentukan cara yang terbaik untuk rawatan dan meramal akibat atau kesan penyakit tersebut ke atas seseorang individu. Lebih dari 100 nama telah digunakan dalam literatur Bahasa Inggeris dan German untuk menerangkan beberapa jenis hipertensi yang berkaitan dengan kehamilan, namun selagi etiologi dan patologi penyakit ini tidak diketahui secara mendalam, tiada klasifikasi yang boleh dianggap tepat.

Pada ketika dahulu, sistem definisi dan klasifikasi yang sering digunakan menggambarkan teori dari penyelidikan dan kurang dikaitkan dengan kesan obstetrik dan perinatal. Memandangkan punca penyakit dan kesan dari proses penyakit ini penting bagi para pengamal perubatan, sistem definisi dan klasifikasi yang baik mestilah melibatkan kedua-duanya.

4.1 Definisi hipertensi kehamilan

Kehadiran proteinuria dan hipertensi selepas minggu ke dua puluh kehamilan disebut sebagai pre-eklampsia, manakala hipertensi tanpa proteinuria selepas minggu ke 20 kehamilan digelar sebagai hipertensi kehamilan (Davey, 1995). Hipertensi sebelum minggu ke 20 kehamilan pula dianggap sebagai hipertensi kronik/hipertensi esensial

takdiagnos, selagi ia bukan disebabkan oleh penyakit lain contohnya penyakit renal, masalah sistem endokrin dan sebagainya. Dalam kes ini, kehamilan selalunya tidak dikaitkan dengan masalah besar, berbanding dengan pre-eklampsia yang sering dikaitkan dengan pelbagai komplikasi. Walau bagaimanapun, kes tersebut masih mempunyai risiko yang tinggi pada bayi contohnya seperti tumbesaran terbantut serta kematian perinatal (McCowan *et al.*, 1996).

4.1.1 Definisi hipertensi

Menurut *International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy*, (ISSHP) definisi hipertensi adalah, sama ada satu bacaan tekanan darah diastolik 110 mmHg atau lebih, atau dua bacaan (yang berturut-turut dengan jarak 4 jam atau lebih) tekanan darah diastolik 90 mmHg atau lebih, dengan tekanan darah diastolik diukur ketika Korotkoff IV (Davey & Mac Gillivray, 1988; Brown *et al.*, 2001).

Tekanan darah diastolik 90 mmHg diambil sebagai penentu kerana terdapat laporan bahawa kadar lahir mati (*stillbirth*) meningkat dengan signifikan dalam wanita yang tekanan darah diastoliknya melebihi 90 mmHg (Friedman & Neff, 1977). Walau bagaimanapun, masih terdapat wanita yang dianggap pre-eklampsia sedangkan tekanan darah diastolik tidak melebihi nilai ambang yang ditetapkan. Diagnosa bagi pre-eklampsia dalam kes ini bergantung kepada ciri-ciri hematologi dan biokimia, serta proteinuria.

4.1.2 Definisi proteinuria

Ketika hamil, protein di dalam urin boleh mencapai ke aras 300 mg protein total/24 jam. Mengikut ISSHP, proteinuria yang signifikan adalah ekskresi protein total sebanyak 300 mg atau lebih, dalam tempoh 24 jam, atau 2 bacaan (yang diambil 4 jam atau lebih jarak antaranya) secara rawak dari spesimen urin *clean catch* atau dari proses kateterisasi menunjukkan sama ada 2+ (1 g albumin/l) atau lebih pada strip reagen (dipstik) atau 1+ (0.3 g albumin/l) jika graviti spesifik kurang dari 1030 (Davey & Mac Gillivray, 1988).

Terdapat sebilangan pesakit hipertensi kehamilan yang menunjukkan *false* positif dan *false* negatif dengan penggunaan dipstik. Oleh sebab itu, apabila dipstik menunjukkan keputusan positif pada sampel hipertensi, pengumpulan urin 24 jam bagi pengukuran aras protein total mesti dibuat (Meyer *et al.*, 1994).

4.2 Klasifikasi Hipertensi Kehamilan

Sistem klasifikasi yang baik perlu menerangkan dengan tepat risiko penyakit dan membantu ahli perubatan dalam perawatan pesakit. Terdapat beberapa sistem klasifikasi iaitu yang dinyatakan oleh ISSHP (Lampiran A), *National Institutes of Health Working Party in America* (NIHWP) (Lampiran B) dan *Australasian Society for the Study of Hypertension in Pregnancy* (ASSHP) (Lampiran C). Sistem klasifikasi NIHWP agak ringkas dan senang difahami, namun tidak begitu tepat berbanding dengan klasifikasi oleh ISSHP, dan penggunaannya kurang digalakkan terutama dalam penyelidikan. Sistem klasifikasi ASSHP pula menggambarkan keadaan pelbagai sistem yang terdapat pada pre-eklampsia serta pelbagai risiko yang mungkin hadir, namun

tidak mementingkan proteinuria dalam diagnosis pre-eklampsia. Ini membuatnya tidak begitu diterima memandangkan ia meninggalkan satu petanda penting dalam menentukan tahap keterukan penyakit ini. Walau bagaimanapun terdapat satu lagi sistem yang dicadangkan oleh penyelidik di Australia (Brown & Buddle, 1997) setelah mengkaji ketiga-tiga klasifikasi yang tersebut di atas. Dalam kajian mereka yang melibatkan kajian kohort pada 1000 wanita yang menghidap hipertensi kehamilan, didapati bahawa bagi kriteria ASSHP, 77% dari wanita tersebut menghidap toksemia pre-eklampsia (PET), yang mana 19% mendapat PET yang teruk. Bagi kriteria *National Institutes of Health* (NIH) dan ISSHP pula, 16% wanita menghidap pre-eklampsia dan 71% mendapat hipertensi sementara atau hipertensi gestasi. Oleh itu mereka membuat kesimpulan bahawa sistem klasifikasi oleh NIH dan ISSHP dapat mengenalpasti lebih banyak wanita yang berisiko tinggi dari segi kesan terhadap dirinya dan juga fetus berbanding dengan klasifikasi oleh ASSHP. Namun jika dibandingkan dalam kes PET yang teruk, semua sistem memperkatakan perkara yang sama. Berdasarkan dari kajian ini, mereka mencadangkan satu klasifikasi yang baru, yang membahagikan pre-eklampsia, hipertensi kehamilan dan hipertensi kronik kepada kumpulan yang berbeza (Lampiran D).

Oleh itu, sistem klasifikasi oleh ISSHP digunakan dengan meluas oleh para penyelidik kerana ia dianggap paling tepat. Dalam klasifikasi ini, kehadiran proteinuria dititikberatkan. Ini adalah kerana kajian ke atas lebih 32000 wanita hamil menunjukkan proteinuria berkait rapat dengan peningkatan mortaliti perinatal walaupun tanpa kehadiran hipertensi (Friedman & Neff, 1977). Di dalam penulisan ini klasifikasi pre-eklampsia adalah bergantung kepada sistem klasifikasi oleh ISSHP.

4.2.1 Klasifikasi ISSHP

Definisi oleh ISSHP adalah seperti di bawah (Lampiran A):

- (A) Hipertensi Gestasi dan/atau proteinuria
 - 1 Hipertensi gestasi (tanpa proteinuria)
 - 2 Proteinuria gestasi (tanpa hipertensi)
 - 3 Hipertensi gestasi berproteinuria (pre-eklampsia)
 - (B) Hipertensi kronik dan penyakit renal kronik (wanita yang didapati mempunyai hipertensi atau proteinuria pada lawatan pertama ke klinik sebelum minggu 20 gestasi tanpa kehadiran penyakit trofoblastik, dianggap mempunyai hipertensi kronik atau penyakit renal kronik)
 - 2 Hipertensi kronik (tanpa proteinuria)
 - 3 Penyakit renal kronik (proteinuria dan hipertensi)
 - 4 Hipertensi kronik dan pertindihan pre-eklampsia
 - (C) Hipertensi takdiklasifikasikan dan/atau proteinuria (hipertensi pada lawatan pertama selepas 20 minggu gestasi, ketika kelahiran atau puerperium, di mana pengetahuan tidak mencukupi untuk menentukan klasifikasi)
 - 1 Hipertensi takdiklasifikasikan (tanpa proteinuria)
 - 2 Proteinuria takdiklasifikasikan (tanpa hipertensi)
 - 3 Hipertensi berproteinuria yang takdiklasifikasikan (pre-eklampsia)
- Klasifikasi ini boleh diubah sekiranya selepas kehamilan, hipertensi/proteinuria berpanjangan ke hipertensi kronik atau penyakit renal, atau pertindihan pre-eklampsia.
- (D) Eklampsia (konvulsi yang berlaku pada wanita yang menunjukkan ciri pre-eklampsia)

BAB 5

ETIOLOGI PRE-EKLAMPSIA

Jika etiologi atau punca penyakit ini diketahui, diagnosis awal dan pencegahan mungkin boleh dibuat. Namun, sehingga kini masih banyak yang belum diketahui mengenai etiologi hipertensi kehamilan. Walau bagaimanapun, beberapa faktor dipercayai mempengaruhi kemunculan penyakit ini. Faktor-faktor tersebut adalah seperti yang tercatat di bawah:

5.1 Umur

Umur memainkan peranan penting dalam mempengaruhi insidens hipertensi dan proteinuria. Walaupun primigravida di bawah umur 20 tahun dipercayai mempunyai risiko yang tinggi terhadap pre-eklampsia (Marti & Herrmann, 1977), tetapi ada kajian yang menunjukkan tiada perubahan dalam risiko pre-eklampsia dalam kumpulan tersebut (Hampton & Powell, 1999). Peningkatan risiko dalam gadis belasan tahun mungkin dikaitkan dengan tempoh hubungan seks yang pendek di antara pasangan dan ini berhubungan dengan pendedahan sistem imuniti ibu terhadap antigen bapa. Walau bagaimanapun risiko semakin meningkat bagi wanita selepas umur 30 tahun (Ziadeh & Yahaya, 2001; Seoud *et al.*, 2002).

5.2 Pariti

Risiko pre-eklampsia adalah lebih tinggi dalam primigravida berbanding dengan multigravida (Conde-Agudelo & Belizan, 2000; Chen *et al.*, 2000; Strevens *et al.*, 2001). Pre-eklampsia kadang-kala dikatakan sebagai penyakit bagi primigravida, kerana jika kehamilan pertama berakhir tanpa pre-eklampsia, maka kemungkinan mendapat pre-eklampsia dalam kehamilan berikutnya adalah kecil. Insidens pre-eklampsia pada kehamilan berikutnya dalam wanita yang mengalami keguguran dalam kehamilan pertama juga didapati berkurangan (Eras *et al.*, 2000; Saftlas *et al.*, 2003). Walau bagaimanapun, wanita paros (*parous*) yang hamil dengan suami baru mempunyai risiko pre-eklampsia yang sama dengan wanita nuliparos (Saftlas *et al.*, 2003). Oleh itu pre-eklampsia dikatakan sebagai masalah primipatniti berbanding dengan primipariti kerana kesan perlindungan multipariti hilang apabila berlaku pertukaran dalam pasangan lelaki (Robillard *et al.*, 1999; Tubbergen *et al.*, 1999; Li & Wi, 2000). Ini mungkin dapat dikaitkan dengan faktor imunisasi ibu terhadap antigen bapa yang akan dibincangkan dalam bahagian berikutnya.

5.3 Tempoh gestasi

Dalam kehamilan normal, tekanan darah meningkat dengan perlahan semasa trimester ketiga dan mencapai nilai sebelum kehamilan di penghujung kehamilan (Christianson, 1976). Hipertensi lebih kerap berlaku di penghujung kehamilan berbanding dengan di awal kehamilan (Rasmussen & Irgens, 2003). Walau bagaimanapun hipertensi yang berlaku di awal kehamilan didapati menghasilkan komplikasi yang teruk berbanding yang bermula di penghujung kehamilan (Mattar & Sibai, 2000). Bayi yang dilahirkan