

Kadar *Calprotectin* pada Bayi Kurang Bulan dan *Respiratory Distress Syndrome*

Ali Usman, Abdurachman Sukadi, Johannes C. Mose

Program Pascasarjana Universitas Padjadjaran Bandung

Abstrak

Calprotectin merupakan peptida antimikrob yang disimpan dalam leukosit sebagai molekul efektor dari respons imun *innate*. Terdapat infeksi intrauterin/intraamniotik berhubungan dengan peningkatan *calprotectin*, defensin, dan *bacterial permeability increasing protein* (BPI) secara bermakna di dalam cairan amnion pada persalinan kurang bulan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar *calprotectin* pada bayi kurang bulan yang menderita dan tidak menderita *respiratory distress syndrome* (RDS). Penelitian observasional analitik dilakukan selama periode Maret 2010–Maret 2012 di RS Dr. Hasan Sadikin, RS Advent, RS Al Islam, RS Khusus Ibu dan Anak Kota Bandung, dan RS Ibu Anak Hermina Pasteur, diperoleh sampel sebanyak 60 bayi kurang bulan yang menderita dan tidak menderita RDS masing-masing sejumlah 30 orang. Cairan amnion diambil untuk pemeriksaan kadar *calprotectin*. Diagnosis RDS dibuat berdasarkan pemeriksaan fisis, skor Downe, dan foto toraks. Didapatkan nilai median kadar *calprotectin* pada kelompok bayi kurang bulan yang menderita RDS sebesar 3.302,6 sedangkan pada kelompok bayi yang tidak menderita RDS sebesar 7.908,85. Pada Uji Mann-Whitney diperoleh $Z_{m-w}=3,063$ ($p=0,002$). *Cut-off point* (COP) *calprotectin* $>3.395,6$ didapatkan jumlah RDS (+) 17 dan RDS (-) 4, sedangkan pada COP *calprotectin* $>3.395,6$ jumlah RDS (+) 13 dan RDS (-) 26. Dapat disimpulkan, kadar *calprotectin* pada bayi yang menderita RDS berbeda dibandingkan dengan kadar *calprotectin* pada bayi yang tidak menderita RDS. Kadar *calprotectin* dapat memprediksi kejadian RDS dengan sensitivitas 56,7%; spesifisitas 86,7%; dan akurasi 71,7%.

Kata kunci: Bayi kurang bulan, *calprotectin*, *respiratory distress syndrome*

Calprotectin Concentrations in Preterm Neonates and Respiratory Distress Syndrome

Abstract

Calprotectin is antimicrobial peptides stored in leucocytes, that acts as effector molecules of the innate immune response. Intrauterine or intraamniotic infection was associated with a significant increase in amniotic fluid concentration of *calprotectin*, defensin and bacterial permeability increasing protein (BPI). The study aims was to explore *calprotectin* concentrations at preterm neonates with and without respiratory distress syndrome. An observational analytic study was performed during March 2010–March 2012 in Dr. Hasan Sadikin, Advent, Al Islam, Mother and Child Hermina Pasteur Hospitals Bandung. Subjects were 60 preterm neonates who divided in two groups, 30 neonates with and 30 neonates without RDS. Sixty samples of amniotic fluid were collected to examine *calprotectin* concentration. The diagnoses of RDS was made based on physical examination, Downe score and chest X-rays. Median value of *calprotectin* concentrations from preterm neonates with RDS was 3,302.6 and neonates without RDS was 7,908.85, with Mann-Whitney test $Z_{m-w}=3.063$ ($p=0.002$). *Cut-off point* (COP) of *calprotectin* 3,395.6 in RDS (+) was 17 and in RDS (-) was 4. *Calprotectin* in RDS COP $>3,395.6$ (+) was 13 and RDS (-) was 26. In conclusions, the concentration of *calprotectin* at RDS (+) is very low and different with the one at RDS (-). The concentration of *calprotectin* can be used to predict the incidence of RDS with sensitivity 56.7%, specificity 86.7%, and accuracy 71.7%.

Key words: *Calprotectin*, preterm neonates, respiratory distress syndrome

Pendahuluan

Respiratory distress syndrome (RDS)/penyakit membran hialin (PMH) atau sindrom distres pernapasan tipe 1 adalah suatu kelainan paru-paru yang terjadi pada bayi kurang bulan karena defisiensi surfaktan paru-paru yang berhubungan dengan imaturitasnya paru-paru janin.¹⁻⁶ Kejadian RDS di berbagai negara di dunia bervariasi, laporan tahunan di Lithuania menunjukkan bahwa kejadian RDS 11,2% dari 5% seluruh kelahiran kurang bulan pada tahun 2001.⁷ *National Institute of Child Health and Human Development* (NICHD) Amerika Serikat melaporkan insidensi RDS sebesar 71% pada bayi berat 501–750 gram, 54% pada bayi berat 751–1.000 gram, 36% pada bayi berat 1.001–1.250 gram, dan 22% pada bayi dengan berat 1.251–1.500 gram.⁸ Makin muda usia kehamilan, makin tinggi kejadian RDS.⁷⁻¹⁰

Respiratory distress syndrome merupakan penyebab yang utama morbiditas dan mortalitas pada kelahiran bayi kurang bulan (BKB). Kirkpatrick dan Muller¹¹ melaporkan kejadian RDS 50–70% pada usia gestasi 28–30 minggu dengan kematian neonatal 80%. Di Inggris telah dilaporkan 70% kematian perinatal terjadi karena prematuritas, setengah kasus mengalami morbiditas kelainan neurologis jangka panjang dan *bronchopulmonary dysplasia* (BPD) atau *chronic lung disease* (CLD).^{12,13}

Pada kejadian infeksi intrauterin kronik dan asimtomatik dengan ketuban masih utuh yang disebabkan oleh kuman komensal, menimbulkan persalinan kurang bulan, ternyata bayi yang lahir lebih sedikit yang menderita RDS daripada bayi yang lahir dari ibu yang tidak mengalami infeksi intrauterin.¹⁴ Pada penelitian *in vitro* terdapat infeksi intrauterin akibat paparan endotoksin pada kehamilan prematur binatang percobaan meningkatkan maturitas paru-paru janin.¹⁵

Kejadian infeksi intrauterin atau intraamnion berhubungan dengan peningkatan *calprotectin*, defensin, *bacterial permeability increasing protein* (BPI), serta interleukin-1F1 (IL-1F1) yang bermakna di dalam cairan amnion, baik pada persalinan kurang bulan dengan ketuban utuh maupun ketuban pecah sebelum waktunya (KPSW).^{1,16} *Calprotectin* itu adalah salah satu peptida antimikrob yang disimpan di dalam leukosit, sebagai molekul efektor respons imun *innate*.¹⁷ Dengan aktivasi neutrofil dan interaksi adhesi endotel dari monosit akan melepas *calprotectin* ke dalam sirkulasi, sehingga dapat

dideteksi di dalam serum dan cairan tubuh termasuk di dalam cairan amnion yang berguna sebagai petanda/*marker* terdapat infeksi.¹⁸

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan kadar *calprotectin* antara bayi kurang bulan yang menderita dan tidak menderita RDS.

Metode

Penelitian ini dilakukan secara observasional analitik di 5 rumah sakit (RS Dr. Hasan Sadikin, RS Advent, RS Al Islam, RS Khusus Ibu dan Anak Kota Bandung, dan RS Ibu Anak Hermina Pasteur Bandung) selama periode Maret 2010 sampai Maret 2012. Subjek adalah bayi baru lahir dari ibu hamil kurang bulan (kurang dari 35 minggu) *in partu* yang memenuhi kriteria inklusi dan tidak termasuk kriteria eksklusi.

Kriteria inklusi adalah bayi yang menderita RDS, bayi yang tidak menderita RDS, dan kelahiran tunggal. Kriteria eksklusinya adalah bayi yang lahir dari ibu yang menderita hipertensi dalam kehamilan, preeklamsi berat, plasenta previa, solusio plasenta, ibu yang mendapat terapi hormon tiroksin, dan bayi lahir dengan cacat bawaan.

Sebelum proses persalinan diambil 20 mL cairan dari amnion untuk pemeriksaan kultur dan juga *calprotectin*. Diagnosis RDS ditegakkan berdasarkan pemeriksaan fisis, skor Downe positif, dan penilaian radiologis untuk membaca apakah terdapat gambaran retikulogranuler difus, *air bronchogram*, dan hipoaerasi. Selain itu, dicatat pemakaian kortikosteroid sebelum persalinan. Kadar *calprotectin* diperiksa dengan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) ($\mu\text{g/mL}$). Data penelitian dianalisis menggunakan *statistical product and service solution* (SPSS) 19 for Windows.

Hasil

Diperoleh bayi kurang bulan yang menderita dan tidak menderita RDS masing-masing sebanyak 30 bayi. Berdasarkan usia ibu, pada kelompok yang menderita RDS yang terbanyak berusia kurang dari 25 tahun yaitu 12 dari 30 bayi, pada kelompok yang tidak menderita RDS usia 25–29 tahun dan 30–34 tahun (Tabel 1), sedangkan dari segi pendidikan yang terbanyak antara kedua kelompok adalah SMA, masing-masing 14 dari 30 dan 12 dari 30 bayi. Pada kelompok yang menderita RDS, ibu yang tidak bekerja sebanyak 18/30 bayi, sedangkan pada

Tabel 1 Karakteristik Subjek Penelitian (Ibu)

Karakteristik	Kelompok	
	RDS (+) n=30	RDS (-) n=30
Usia (tahun)		
<25	12	7
25–29	6	9
30–34	9	9
>35	3	5
Pendidikan		
≤SMP	10	7
SMA	14	12
PT	6	11
Pekerjaan		
Bekerja	12	20
Tidak bekerja	18	10

kelompok yang tidak menderita RDS, ibu yang bekerja sebanyak 20 dari 30 bayi.

Karakteristik bayi berdasarkan jenis kelamin, pada kelompok yang menderita RDS perempuan lebih banyak (16 dari 30 bayi), sedangkan pada kelompok yang tidak menderita RDS laki-laki lebih banyak (19 dari 30 bayi; Tabel 2).

Mengenai berat lahir pada kelompok yang menderita RDS yang terbanyak adalah berat bayi lahir amat sangat rendah (BBLASR) (<1.000 gram) sebanyak 11 dari 30 bayi, selanjutnya

adalah bayi berat lahir antara 1.500–1.999 gram sebanyak 9 dari 30 bayi, sama jumlahnya pada kelompok yang tidak menderita RDS. Lebih dari sepertiga dari jumlah kasus pada kelompok yang menderita RDS berat lahirnya kurang dari 1.000 gram dan usia kehamilannya kurang dari 28 minggu.

Skor *appearance, pulse, grimace, activity, respiration* (APGAR) pada kelompok yang menderita RDS sebagian besar rendah yaitu asfiksia berat sebanyak 6 dari 30 bayi dan asfiksia

Tabel 2 Karakteristik Subjek Penelitian (Bayi Kurang Bulan)

Karakteristik	Kelompok	
	RDS (+) n=30	RDS (-) n=30
Jenis kelamin		
Laki-laki	14	19
Perempuan	16	11
Berat lahir (gram)		
<999	11	0
1.000–1.499	5	4
1.500–1.999	9	9
≥2.000	5	17
Skor APGAR (1/5)		
0–3	6	1
4–6	14	8
7–10	10	21

Tabel 3 Karakteristik Subjek Penelitian (Ibu)

Kadar <i>Calprotectin</i> (ug/mL)	Kelompok	
	RDS (+) n=30	RDS (-) n=30
X (SD)	5.064,7 (5.226,5)	9.347,65 (5.877,6)
Median	3.302,6	7.908,85
Rentang	593,8–18.343,4	156,7–18.343,4

Keterangan: $Z_{m-w}=3,063$; $p=0,002$ (sangat bermakna)

sedang/ringan 14 dari 30 bayi, sedangkan pada kelompok yang tidak menderita RDS yang terbanyak tidak menderita asfiksia (21 dari 30 bayi). Perbandingan kadar *calprotectin* pada kelompok yang menderita dan tidak menderita RDS tercantum pada Tabel 3.

Pada kadar *calprotectin* $\leq 3.395,6$ jumlah yang menderita RDS sebanyak 17 bayi dan yang tidak menderita RDS ada 4 bayi, sedangkan pada kadar *calprotectin* $> 3.395,6$ jumlah yang menderita RDS sebanyak 13 bayi dan yang tidak menderita RDS ada 26 bayi, maka didapatkan nilai OR (95%IK)=8,50 (2,07–37,85), dengan hasil sensitivitas 56,7%; spesifisitas 86,7%; dan

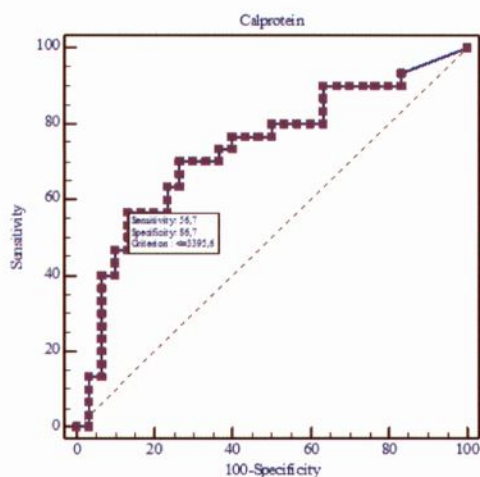
akurasi 71,7% (LR+ =4,25; LR- =0,5).

Jika pada perhitungan faktor perancu usia kehamilan dan pemakaian kortikosteroid turut dianalisis, diperoleh nilai $p=0,026$, dengan rata-rata (SE) yang sudah disesuaikan adalah untuk yang menderita RDS 5.112,9 (1.165,35) dan yang tidak menderita RDS rata-rata adalah 9.299,4 (1.165,35). Jadi kadar COP *calprotectin* $\leq 3.395,6$ dapat dipakai sebagai prediktor terjadinya RDS dengan besarnya sensitivitas 56,7%; spesifisitas 86,7%; dan akurasi 71,7%.

Pembahasan

Respiratory distress syndrome (RDS) adalah salah satu komplikasi dari kelahiran imatur atau prematur. Makin muda usia kehamilan, makin tinggi kejadian RDS.⁷⁻¹⁰ Sesuai usia kehamilan dalam minggu, kejadian RDS berturut-turut yaitu 90% terjadi pada usia kehamilan 26 minggu, 80% pada usia kehamilan 28 minggu, 70% pada usia kehamilan 30 minggu, 55% pada usia kehamilan 32 minggu, 25% pada usia kehamilan 34 minggu, dan 12% pada usia kehamilan 36 minggu.¹⁹

Kejadian RDS pada usia kehamilan 28–30 minggu terdapat sekitar 50–70% dengan kematian neonatal sebanyak 80%.¹¹ Seperti yang dilaporkan Stříž dan Trebichavský¹⁷ bahwa *calprotectin* diekspresikan dan dilepaskan oleh neutrofil atau monosit ke dalam serum darah atau cairan tubuh termasuk cairan amnion yang

**Gambar Penentuan COP *Calprotectin*****Tabel 4 Hubungan antara COP *Calprotectin* dan Kejadian RDS**

COP <i>Calprotectin</i>	Kelompok		Sensitivitas (%)	Spesifisitas (%)	Akurasi (%)
	RDS (+) n=30	RDS (-) n=30			
$\leq 3.395,6$	17	4	56,7	86,7	71,7
$> 3.395,6$	13	26			

Keterangan: OR (95% IK)=8,50 (2,07–37,85)

berguna sebagai petanda terdapat inflamasi secara klinis. Pada penelitian ini baik pada kelompok BKB yang menderita RDS maupun yang tidak menderita RDS terjadi peningkatan kadar *calprotectin*.

Espinoza dkk.¹⁸ sudah melaporkan bahwa pada kehamilan kurang bulan dengan ketuban utuh maupun pada KPSW yang mengalami infeksi intrauterin terjadi peningkatan defensin, BPI, dan *calprotectin* yang sangat bermakna. Demikian juga pada penelitian ini didapatkan peningkatan kadar *calprotectin* yang bermakna pada kelompok BKB yang tidak mengalami RDS dibandingkan yang menderita RDS ($p=0,002$). Pada penelitian yang lain seperti yang dilakukan oleh Buhimschi dkk.²⁰ menemukan 4 *proteomic biomarker* terdapat infeksi intraamnion yaitu peningkatan nilai HNP1, HNP2, *calgranulin C*, dan *calgranulin A* yang merupakan bentuk *calprotectin* kompleks. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian ini bahwa kadar *calprotectin* pada kelompok BKB yang mengalami RDS jumlahnya jauh lebih rendah bila dibandingkan dengan kelompok BKB yang tidak mengalami RDS yang berbeda sangat bermakna ($p=0,002$). Berdasarkan uji regresi logistik variabel kadar *calprotectin* masih dapat digunakan untuk memprediksi kejadian RDS ($p=0,026$) dengan besarnya sensitivitas 56,7%; spesifisitas 86,7%; dan akurasi 71,7%.

Dapat disimpulkan bahwa kadar *calprotectin* pada bayi kurang bulan yang mengalami RDS jauh lebih rendah daripada bayi kurang bulan yang tidak menderita RDS.

Daftar Pustaka

1. Klein LL, Gibbs RS. Infection and preterm birth. *Obstet Gynecol Clin N Am*. 2005;32:397-410.
2. Martin JA, Hamilton BE, Sutton PD, Ventura SJ, Mathews TJ, Osterman MJK. Births: final data for 2008. *Nat Vit Stat Rep*. 2010;59(1):1-72.
3. Laudanski P, Pierzynski P, Laudanski T. Reductionist and system approaches to study the role of infection in preterm labor and delivery. *BMC Pregnancy and Childbirth*. 2007;7(suppl 1):59.
4. Kochanek KD, Kirmeyer SE, Martin JA, Strobino DM, Guyer B. Annual summary of vital statistics: 2009. *Pediatrics*. 2012 Feb;129(2):338-48. Epub 2012 Jan 30.
5. Cox, K. Preterm labor. Dalam: Bader TJ. *OB/GYN Secrets*. Edisi ke-3. Philadelphia: Mosby; 2004. hlm. 291-7.
6. Stoll BJ, Kliegman RM. The fetus and the neonatal infant. Dalam: Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB, penyunting. *Nelson textbook of pediatrics*. Edisi ke-18. Philadelphia: WB Saunders; 2007. hlm. 451-3, 477-85, 496-505.
7. Ramaðauskaitė D, Dràsutienė GS. Lamellar body counts for fetal lung maturity testing. *Acta Medica Lituanica*. 2004;11(1):17-20.
8. Štimac T, Petrović O, Krajina R, Prodan M, Bilić-Zulle L. Lamellar body count as a diagnostic test in predicting neonatal respiratory distress syndrome. *Croat Med J*. 2012 Jun;53(3):234-8.
9. Tsuda H, Takahashi Y, Iwagaki S, Uchida Y, Kawabata I, Hayakawa M, dkk. Amniotic lamellar body counts can predict the occurrence of respiratory distress syndrome as well as transient tachypnea of the newborn (TTN). *J Perinat Med*. 2011 May;39(3):245-50. Epub 2011 Feb 11.
10. Lu J, Gronowski AM, Eby C. Lamellar body counts performed on automated hematology analyzers to assess fetal lung maturity. *Lab Med*. 2008 July;39(7):419-23.
11. Kirkpatrick BV, Mueller DG. Respiratory disorders in the newborn. Dalam: Chernick V, Boat TF, Edwin L, penyunting. *Kendig's disorders of the respiratory tract in children*. Edisi ke-7. Philadelphia: WB Saunders; 2006. hlm. 328-64.
12. Gomella TL, Cunningham MD, Eyal FG, penyunting. *Neonatology: management, procedures, on call problems, diseases and drugs*. Edisi ke-6. New York: Mc Graw-Hill Professional; 2009.
13. Parad RB. Bronchopulmonary dysplasia/chronic lung disease. Dalam: Cloherty JP, Eichenwald EC, Stark AR, penyunting. *Manual of neonatal care*. Edisi ke-6. Lippincott Williams & Wilkins; 2008.
14. Tita AT, Andrews WW. Diagnosis and management of clinical chorioamnionitis. *Clin Perinatol*. 2010 Jun;37(2):339-54.
15. Sosenko IR, Kallapur SG, Nitsos I, Moss TJ, Newnham JP, Ikegami M, dkk. IL-1 alpha causes lung inflammation and maturation by direct effects on preterm fetal lamb lungs. *Pediatr Res*. 2006 Sep;60(3):294-8.
16. Tollin M. Antimicrobial peptides & proteins in innate immunity: emphasis on isolation,

- characterization and gene regulation [Doctoral thesis]. Sweden: Karolinska Institutet; 2005.
17. Stříž I, Trebichavský I. Calprotectin—a pleiotropic molecule in acute and chronic inflammation. *Physiol Res.* 2004;53:245–53.
 18. Espinoza J, Chaiworapongsa T, Romero R, Edwin S, Rathnasabapathy C, Gomez R, dkk. Antimicrobial peptides in amniotic fluid: defensins, calprotectin and bacterial/permeability-increasing protein in patients with microbial invasion of the amniotic cavity, intra-amniotic inflammation, preterm labor and premature rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2003;13:2–21a.
 19. Halliday HL, Mc Clure BG, Reid M. Respiratory problems. Dalam: Gardner SL, Carter BS, Enzman-Hines MI, Hernandez JA, penyunting. *Merenstein & Gardner's handbook of neonatal intensive care.* Edisi ke-7. Philadelphia: WB Saunders; 2010. hlm.
 20. Buhimschi IA, Buhimschi CS, Weiner CP, Kimura T, Hamar BD, Sfakianaki AK et al. Proteomic but not enzyme-linked immunosorbent assay technology detects amniotic fluid monomeric calgranulins from their complexed calprotectin form. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2005;12(7):837–44.