

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kelainan kromosom merupakan penyebab abortus spontan (*early pregnancy loss*) pada sekitar lebih dari 50%.¹ Kelainan kromosom yang paling umum adalah aneuploidi (kelainan jumlah) autosom (~75%), poliploidi (~13%), kelainan jumlah kromosom seks (~8%), dan kelainan struktural (~4%).² Fetus dengan kelainan jumlah kromosom terhitung 6 – 11% dari semua kematian perinatal, dan 0.65% bertahan hidup dengan morbiditas.¹

Kelainan jumlah kromosom menyebabkan beberapa sindrom, yang biasanya memiliki manifestasi abnormalitas seperti disabilitas intelektual berat, kelainan disomorfik multipel, retardasi pertumbuhan, dan lainnya. Insidensi kelainan jumlah kromosom (aneuploidi) sekitar 1 per 160 kelahiran hidup.^{3,4} Efek pada fenotipe ini disebabkan karena perubahan dosis sekuens pada region yang berperan.⁵

Mayoritas kelainan jumlah kromosom yang diidentifikasi adalah trisomi 21. Kelainan kromosom lain lebih jarang dan lethal seperti trisomi 13 dan 18, yang memiliki ekspektansi hidup sangat rendah (dalam hari dan bulan, masing-masing), sedangkan trisomi 21 berhasil bertahan hingga aterm. Kelainan kromosom lain seringkali asimtomatik, dan relatif ringan (seperti monosomi X (Sindrom Turner), trisomi kromosom seks; XXY (Sindrom Klinefelter), XXX, XYY).^{5,6}

Trisomi 21 atau Sindrom Down (SD) merupakan kelainan jumlah kromosom yang paling banyak ditemui dan dipelajari.^{7,8} Angka insidensi neonatal SD adalah 1/600 – 1/800 kelahiran hidup.⁹ Jika ditarik dari sensus populasi 2010, terdapat kurang lebih 235.000 anak dengan SD di Indonesia.¹⁰ Manifestasi klinis dari Sindrom Down adalah disabilitas intelektual dan malformasi kongenital dari berbagai organ. Sebagian besar pasien Sindrom Down memiliki hendaya / kesulitan dalam perawatan diri mereka sendiri sehari-hari. Hingga saat ini sindrom ini tidak dapat disembuhkan dan belum ada terapi efektif yang tersedia. Karena itu, diagnosis prenatal memiliki peran penting dalam memprediksi sindrom ini.⁹

Diagnosis prenatal sangat membantu klinisi untuk menjelaskan macam kelainan, etiologi kelainan kongenital, dan mempersiapkan tatalaksana selama kehamilan, persalinan, serta setelah bayi lahir.¹¹ Kasus aneuploidi meningkat seiring dengan bertambahnya usia ibu (*maternal age*), meskipun berkembangnya skrining prenatal noninvasif, diagnosis kelainan kromosom fetus adalah indikasi utama untuk prenatal diagnosis invasif.¹²

Karyotyping yang merupakan standar penentuan kelainan kromosom fetus telah menjadi baku emas sejak tahun 1970, namun memiliki beberapa kelemahan untuk prenatal diagnosis di antaranya memakan waktu yang lama (minimal 2 minggu untuk kultur, panen, dan pembacaan), membutuhkan keahlian yang tinggi, rendahnya kualitas sampel akan menyebabkan kegagalan deteksi, dan memiliki risiko kontaminasi eksternal.^{9,13} Selain itu, analisis sitogenetik rutin ini hanya dapat mendeteksi kelainan kromosom dengan resolusi sampai 5 Mb.

Dalam dekade terakhir, terdapat teknik-teknik molekuler untuk mendeteksi kelainan kromosom seperti *quantitative fluorescence PCR* (QF-PCR) dan *multiplex ligation dependent probe amplification* (MLPA). Namun, pada QF-PCR menggunakan lokus polimorfik yang menunjukkan variasi frekuensi allel. Polimorfisme informatif yang ditemukan pada suatu populasi, mungkin tidak dapat diaplikasikan pada populasi lain.⁷ Sedangkan metode MLPA yang membutuhkan persiapan untuk hibridisasi probe via duplikasi M13, dan membutuhkan elektroforesis kapiler sebagai analisis post-PCR.^{7,9}

Di tahun-tahun terakhir ini telah dikenalkan sebuah teknik baru "*high-resolution melting (HRM) analysis of segmental duplications*" untuk mendeteksi kelainan jumlah kromosom. Sekuens DNA yang terletak pada beberapa kromosom diamplifikasi secara bersamaan menggunakan satu set primer. Pemisahan dua utas DNA dengan panas (leleh) dimonitor dengan fluoresens. Aneuploidi yang terdeteksi akan menghasilkan rasio kromosom yang berbeda dari sekuens ampikon yang sama yang terlihat dari kurva leleh (*melting curve*).^{14,15}

Konseling genetika pada keluarga memainkan peran penting dalam pengelolaan kasus genetik, sehingga prenatal diagnosis yang cepat diharapkan dapat menjadi landasan dalam penjelasan mengenai jenis kelainan, pola penurunannya, serta tata laksanaanya dari semenjak kehamilan hingga setelah bayi lahir. Penelitian ini menggunakan sampel pasien trisomi 21 dengan mempertimbangkan frekuensi kejadian yang paling tinggi di antara kelainan kromosom numerikal lain, yang seringkali lethal ataupun relatif menunjukan simtom yang ringan. Dengan metode

duplikasi segmental – HRM ini diharapkan dapat dengan jelas membedakan antara sampel penderita dan individu normal, lebih sederhana dalam pelaksanaan, hemat waktu, dan juga mengurangi biaya, sehingga dapat menjadi sarana diagnosis cepat untuk pelayanan prenatal diagnosis di Indonesia.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimanakah efektivitas metode duplikasi segmental – HRM dibandingkan dengan *karyotyping* yang masih menjadi baku emas dalam mendeteksi kelainan jumlah kromosom, khususnya trisomi 21?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah mengusulkan aplikasi metode duplikasi segmental - HRM sebagai preliminar diagnosis prenatal di Indonesia.

1.3.2 Tujuan Khusus Penelitian

1. Untuk mengetahui analisis metode duplikasi segmental - HRM dibandingkan dengan analisa kromosom menggunakan *karyotyping* (G-banding) yang merupakan baku emas di Indonesia dalam menentukan kelainan jumlah kromosom (trisomi 21)
2. Mendorong penerapan metode duplikasi segmental - HRM untuk diagnosis prenatal secara cepat di Indonesia.

1.4 Manfaat penelitian

1. Menyediakan data tentang nilai sensitivitas, spesifisitas, nilai duga positif (NDP), nilai duga negatif (NDN) dari metode duplikasi segmental – HRM dalam penerapannya pada sampel trisomi 21 yang juga dapat diaplikasikan pada sampel aneuploidi lain.
2. Menyediakan data tentang kelebihan metode duplikasi segmental – HRM dibandingkan dengan metode-metode molekuler lain dalam mendeteksi kelainan jumlah kromosom di Indonesia.
3. Mendorong penerapan metode duplikasi segmental - HRM untuk mendeteksi kelainan kromosom secara cepat di Indonesia, dengan keunggulan : risiko kegagalan kultur dan kontaminasi yang lebih rendah, dapat diaplikasikan pada laboratorium yang tidak mempunyai fasilitas kultur steril (Biosafety Level 1), dilakukan dengan lebih cepat (~2 hari dibandingkan dengan metode G-banding yang memakan waktu minimal 2 minggu), lebih murah, sehingga ideal digunakan untuk skrining.
4. Sebagai landasan untuk menjelaskan kepada orangtua tentang jenis kelainan, etiologi kelainan, dan mempersiapkan tatalaksana selama kehamilan, persalinan, serta setelah bayi lahir.

1.5 Originalitas penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian pertama di Indonesia dalam mendiagnosis kelainan kromosom 21 numerikal dengan menggunakan Metode SD-HRM. Tabel 1 menunjukkan studi sebelumnya mengenai metode SD-HRM untuk mendeteksi aneuploidi.

Tabel 1. Daftar penelitian sebelumnya mengenai uji diagnostik dengan metode duplikasi segmental untuk mendeteksi kelainan jumlah kromosom

No	Penulis	Judul Publikasi	Metode	Hasil
1.	L Sun, et al (2014, <i>Gene</i>)	<i>Rapid detection of Down's syndrome using quantitative real-time PCR (qPCR) targeting segmental duplications n chromosome 21 and 11</i>	50 subyek Sindrom Down dan 82 orang normal dilakukan pemeriksaan dengan qPCR dengan metode duplikasi segmental pada gen T1C3 kromosom 21 dan gen KMD2A kromosom 11. Hasilnya dibandingkan dengan karyotype.	Nilai ΔCq (<i>quantification cycle</i>) dari duplikasi segmental dengan jelas dapat membedakan Sindrom Down dengan control normal. Hasil qPCR konsisten dengan analisis karyotipe.
2.	Guo Q, Xiao L, Zhou Y (2012, <i>Clinical Chemistry</i>)	<i>Rapid Diagnosis of Aneuploidy by High-Resolution Melting Analysis of Segmental Duplications</i>	48 sampel trisomi 21 (44 sampel darah tepi, 4 sampel darah tali pusat), 10 sampel darah tali pusat trisomi 18, 3 sampel darah tali pusat trisomi 13, 8 sampel darah tepi pasien 45,X, 14 sampel darah tepi pasien 47,XXY serta 48 kontrol yang sudah divalidasi dengan <i>karyotyping</i> , dilakukan pemeriksaan PCR dan SD-HRM (protokol Roche) dengan set primer T21-1 T21-2, T18-1 T18-2, T13-1 T13-2, XA-1 XA-2, XY-1 XY-2.	Sensitivitas 100% dan spesifisitas 99.6%

3.	Zhou Y, Xiao L, Wu Q, Zhang K, Guo Q, (2014, Genetic testing and molecular biomarkers)	<i>Rapid prenatal diagnosis of Common Numerical Chromosome Abnormality by High-Resolution Melting Analysis of Segmental Duplications</i>	50 sampel vili korialis, 1105 sampel cairan amnion, dan 395 sampel darah tali pusat, yang sudah diperiksa dengan <i>karyotyping</i> dilakukan pemeriksaan PCR dan SD-HRM (protokol Roche), dengan primer 13vs18, 18vs21, 12vs21, 7vs13, 2vsX, 3vsX, XvsY-1, XvsY-2	Sensitivitas 100% dan spesifisitas 99.9% - 100%
----	--	--	--	---
