

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Penelitian

Gangguan spektrum autis merupakan suatu gangguan perkembangan saraf yang termasuk dalam gangguan perkembangan pervasif diluar *attention deficit hyperactivity disorder* dan *attention deficit disorder*. Gangguan spektrum autis ini ada yang merupakan salah satu kelainan dari suatu penyakit yang diderita pasien yang disebut dengan gangguan spektrum autis sindromik, contohnya adalah autis pada penderita sindrom *fragile-x*. Pada penderita gangguan spektrum autis non sindromik, kelainan yang ditemukan hanya mengacu pada diagnosa autis saja. Tidak terdapat tanda-tanda keluhan dari penyakit yang lainnya.

Pemeriksaan klinis, *neuroimaging*, *neuropathology*, dan neurokimia menunjukkan bahwa gangguan spektrum autis adalah gangguan sistem saraf-kortikal yang menyebabkan terganggunya pengolahan informasi di sistem saraf. Hal ini dapat terjadi dari mulai proses sinaptik dan dendritik untuk konektivitas sampai dengan struktur otak tampaknya dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan.¹

Risiko terulangnya kembali kejadian gangguan spektrum autis pada anak berikutnya sebesar 20-50 kali lebih tinggi dari nilai pada populasi.² Orang tua dan saudara sekandung (kakak atau adik) biasanya juga menunjukkan gejala ringan dari gangguan spektrum autis ini, diantaranya keterlambatan dalam berbicara (bahasa), keterlambatan dalam hal bersosialisasi, tidak mempunyai hubungan pertemanan dan berkepribadian perfeksionis atau kaku dalam kehidupan sosialnya.^{3,4}

Beberapa faktor risiko dapat berpengaruh dalam bentuk interaksi gen-gen atau interaksi gen-lingkungan. Interaksi ini dapat berupa faktor lingkungan yang toksik atau faktor epigenetik, yang mengubah fungsi gen, pada gilirannya mengubah jaringan saraf. Faktor epigenetik secara spesifik dapat diambil contoh dari aspek fisik (misalnya senyawa biokimia aktif) atau aspek psikologis (misalnya stres) yang berpengaruh terhadap susunan kimia otak, gen-gen yang menjadi aktif/pasif pada saat perkembangan, atau perubahan dalam hal ekspresi gen.⁵

Enzim *methylenetetrahydrofolate reductase* (MTHFR) memegang peranan penting dalam reaksi kimia pada pembentukan asam folat. Enzim ini berperan sebagai katalis dalam perubahan *5,10-methylenetetrahydrofolate* menjadi *5-methyltetrahydrofolate*. Struktur *5-methyltetrahydrofolate* ini merupakan bentuk folat yang terdapat pada sirkulasi utama dan digunakan dalam remetilasi *homocystein* menjadi *methionine*.⁶ Alur reaksi folat-*methionine* berperan dalam hal sintesis DNA, metilasi DNA, dan keseimbangan reduksi-oksidasi seluler.⁷⁻⁹ *Methionine* merupakan asam amino yang berperan penting dalam sintesis protein, karena merupakan *start* kodon pada proses sintesis protein. Gangguan alur proses reaksi folat-*methionine* telah diidentifikasi pada individu dengan gangguan spektrum autisme.¹⁰

Pengurangan kemampuan proliferasi dari sel untuk beregenerasi pada daerah kritis di otak yang disebabkan oleh hilangnya sintesis nukleotida.^{11,12} Sejak diketahuinya folat dan metilasi berpengaruh terhadap perkembangan jaringan saraf, maka skrining terhadap gen *MTHFR* ini seringkali dilakukan.¹³

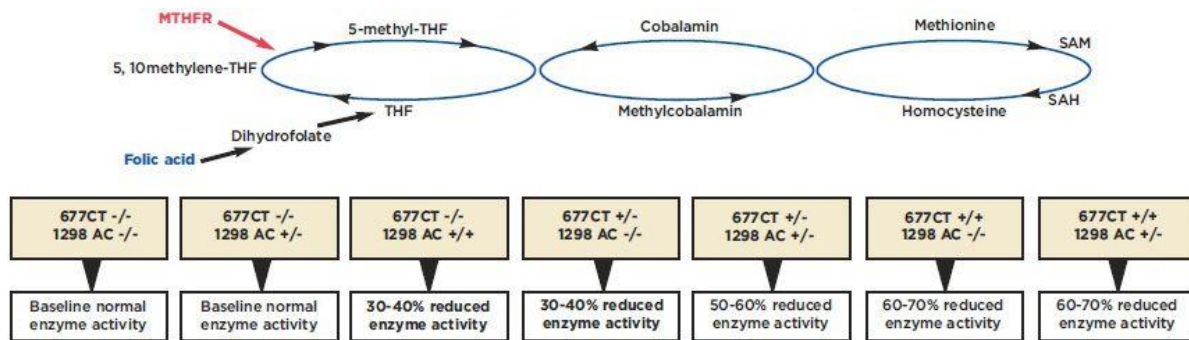
Gen *MTHFR* terletak pada lengan pendek dari kromosom 1 yaitu di 1p36.3, mempunyai 9 exon. Polimorfisme yang sering terjadi pada gen *MTHFR* yaitu A1298C (rs1801131) pada exon ke 7 serta C677T (rs1801133) pada exon ke 4, kedua polimorfisme ini yang telah diketahui dapat menurunkan aktifitas dari enzim *MTHFR*.¹⁴

Sebuah *point mutation* pada ekson 7 (A1298C) mengubah asam amino glutamat menjadi alanin (E429A). Ekspresi pada bakteri maupun pada cDNA *MTHFR* dengan polimorfisme ini memperlihatkan penurunan aktifitas enzim menjadi 68% bila dibandingkan dengan *wild type*. Pada polimorfisme ini, enzim tidak bersifat lebih labil terhadap peningkatan suhu (*thermolabile*). Homosigot (1298CC) polimorfisme ini terdapat pada 8% populasi.

Polimorfisme C677T menghasilkan penurunan aktifitas enzim menjadi 45% bila dibandingkan dengan *wild type*. Heterosigot antara alel C677T (677CT) dengan alel A1298C (1298AC) memiliki karakteristik biokimia yang lebih menyerupai dengan homosigot 677TT.¹⁵

Pada penelitian ini dilakukan pemeriksaan polimorfisme C677T gen *MTHFR* (homosigot 677TT) dikarenakan pada polimorfisme inilah terjadinya penurunan aktifitas enzim *MTHFR*

yang paling besar, bila dibandingkan dengan polimorfisme lainnya, dijelaskan pada Gambar 1. Tampak pada kotak ke-2 dari kanan, homosigot 677TT mempunyai penurunan aktifitas enzim yang paling tinggi. Sampel penelitian ini adalah DNA penderita gangguan autisme non sindromik di Jawa.



Gambar 1. Tingkat penurunan aktifitas enzim MTHFR berdasarkan polimorfismenya.¹⁶

Gen *MTHFR* pada posisi basa 677 mempunyai 2 kemungkinan nukleotida, yaitu *cytosine* (C) atau *thymine* (T). Nukleotida C pada posisi basa ke 677 merupakan alel normal dengan asam aminonya alanin. Pada perubahan nukleotida C menjadi nukleotida T pada posisi basa ke 677, maka akan mengubah asam amino alanin menjadi asam amino valin. Alel yang telah berubah menjadi valin bersifat termolabil, yang pada akhirnya mengurangi efektifitas dari enzim.¹⁵

Individu homosigot dengan dua alel C (677CC), memiliki susunan gen *MTHFR* yang normal (*wildtype*). Homosigot mutan dengan dua alel T (677TT) akan mengalami *hyperhomocysteinemia* (kadar *homocysteine* yang tinggi dalam darah), yang diakibatkan oleh defisiensi enzim *MTHFR* yang normal. Individu yang memiliki alel C dan T (heterosigot 677CT) hampir sama dengan seorang yang normal, karena *MTHFR* yang normal dapat menggantikan *MTHFR* yang termolabil. Derajat termolabil pada aktifitas enzim *MTHFR* ini sangat tinggi (dihitung sebagai residu setelah pemanasan) pada individu dengan homosigot

TT yaitu 18-22%. Heterosigot 677CT memiliki derajat efektifitas sebesar 56%, dan pada homosigot CC sebesar 66-67%.¹⁵

Polimorfisme C677T ini sendiri telah diketahui berhubungan dengan kejadian *neural tube defect*, penyakit *cerebrovascular* dan penyakit *cardiovascular*, serta kanker *colorectal* dan penyakit-penyakit psikiatri.¹⁶⁻¹⁸

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, dapat dirumuskan permasalahan yang dapat diidentifikasi dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. Bagaimanakah distribusi dan frekuensi polimorfisme C677T gen *MTHFR* pada penderita gangguan spektrum autis non sindromik di Jawa?
2. Apakah ada perbedaan frekuensi polimorfisme C677T gen *MTHFR* pada penderita gangguan spektrum autis non sindromik di Jawa dan pada kelompok kontrol normal?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui distribusi dan frekuensi polimorfisme C677T gen *MTHFR* pada penderita gangguan spektrum autis non sindromik di Jawa.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Mengetahui distribusi dan frekuensi polimorfisme C677T gen *MTHFR* pada penderita gangguan spektrum autis non sindromik di Jawa dan pada kelompok kontrol normal.
2. Mengetahui perbedaan frekuensi polimorfisme C677T gen *MTHFR* pada penderita gangguan spektrum autis non sindromik di Jawa dan kelompok kontrol normal

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi tentang distribusi dan frekuensi polimorfisme C677T gen *MTHFR* pada penderita gangguan spektrum autis non sindromik di Jawa dan pada kelompok kontrol normal.
2. Dapat digunakan sebagai data awal untuk penelitian lebih lanjut.
3. Dapat digunakan sebagai salah satu metode pemeriksaan untuk penyakit-penyakit yang berhubungan dengan metabolisme folat.

1.5 Keaslian Penelitian

Polimorfisme C677T gen *MTHFR* telah banyak dikaitkan dengan berbagai macam penyakit. Penelitian polimorfisme C677T gen *MTHFR* pada penderita gangguan spektrum autisme masih sedikit yang telah dilaporkan. Di Indonesia belum ada penelitian mengenai gen ini terhadap penderita gangguan spektrum autisme, khususnya di Jawa. Penelitian yang telah dilakukan dan mendukung untuk dilakukannya penelitian ini, dijelaskan pada Tabel 1.1

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian.

Judul dan Pengarang.	Metode Penelitian	Hasil/Simpulan
<i>Association of MTHFR Gene Variants with Autism.</i> ¹³ Boris M, Goldblatt A, Galanko J, James J.	Analisis polimorfisme gen <i>MTHFR</i> C677T dan A1298C pada 168 anak Autisme.	Terdapat hasil yang nyata adanya polimorfisme pada gen <i>MTHFR</i> C677T, 23% alel 677TT pada anak autisme dan 11% pada kontrol ($P < 0,0001$)
<i>Population and Family Based Studies Associate the MTHFR Gene with Idiopathic Autism in Simplex Families.</i> ¹⁹ Liu X, Solehdin F, Cohen I L, Gonzalez M G, Jenkins E C, Lewis M E S, Holden J J A.	Analisis pada gen <i>MTHFR</i> C677T dari 205 keluarga di Amerika utara yang memiliki satu atau lebih anak dengan Autisme.	Terdapat hubungan antara penurunan aktifitas enzim <i>MTHFR</i> dengan risiko terjadinya Autisme. Terdapat 42,9% anak autisme yang memiliki alel 677TT, dibandingkan dengan kontrol yang memiliki alel 677TT sebesar 32,3% ($P = 0,0004$).