

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

*Cystic Fibrosis* (CF) atau fibrosis kistik atau *mucoviscidosis* merupakan suatu kelainan autosomal resesif yang disebabkan oleh adanya mutasi pada gen *Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator* (CFTR).<sup>1-3</sup> Protein yang dikode oleh gen CFTR merupakan sebuah kanal klorida (Cl<sup>-</sup>) yang terletak terutama di membran apikal sel-sel epitel.<sup>3, 4</sup> Kanal Cl<sup>-</sup> ini berfungsi untuk meregulasi transpor elektrolit dan cairan melalui membran sel yang terdapat di berbagai jaringan seperti traktus respiratorius, pankreas, intestinal, dan kelenjar-kelenjar keringat.<sup>4-6</sup>

Gangguan pada protein CFTR bermanifestasi pada terjadinya retensi ion-ion Cl<sup>-</sup> di dalam sel yang kemudian memblok sekresi air sehingga menyebabkan mukus menjadi tebal dan meningkatkan viskositasnya, yang pada akhirnya mengakibatkan hilangnya sistem pembersihan mukosilier (*mucociliary clearance*).<sup>3</sup> Konsekuensi ini dapat menutup jalannya udara pernapasan dan membuat penderita rentan terhadap infeksi bakteri.<sup>7</sup> Manifestasi klinik pada kelenjar keringat berupa terjadinya peningkatan konsentrasi garam di dalam keringat (lebih dari 60 mmol/l), yang digunakan sebagai tes diagnostik bagi penyakit tersebut.<sup>8,9</sup>

CF merupakan penyakit langka yang paling sering ditemukan pada populasi Kaukasia.<sup>3</sup> CF merupakan penyakit yang bersifat progresif dan diturunkan, sehingga telah banyak penelitian yang dilakukan dalam upaya untuk memahami mekanisme CF.

Penelitian mengenai mekanisme CF ini amat penting dalam merencanakan strategi terapeutik yang efektif dan pengetahuan mengenai berat ringannya efek mutasi bermanfaat untuk keperluan konseling genetika. Penapisan terhadap bayi baru lahir telah menjadi hal yang rutin dilakukan pada populasi Kaukasia, untuk dapat mendeteksi lebih awal keberadaan mutasi gen *CFTR* sehingga dapat diberikan penanganan yang tepat kepada pasien dan keluarganya. Walaupun mutasi-mutasi baru dapat teridentifikasi secara terus-menerus, konsekuensi patofisiologisnya masih belum diketahui seluruhnya.<sup>10</sup> Diantara semua mutasi yang terdaftar dalam *database* mutasi *CFTR* (*Cystic Fibrosis Mutations Database/CFMDB*), yang paling banyak ditemukan adalah mutasi-mutasi *missense*.<sup>11</sup>

Mutasi *missense* merupakan mutasi pada satu basa nukleotida di mana terjadi suatu substitusi yang menyebabkan pengkodean asam amino yang berbeda. Dalam hal ini, tidak semua mutasi *missense* berakibat pada perubahan protein baik pada level struktural maupun fungsional. Salah satu mutasi yang dideteksi di Laboratorium Genetika Molekuler Penyakit Langka, Poitiers, adalah sebuah mutasi *missense* yang ditemukan pada seorang pria keturunan Perancis utara: *c.965T>C* (*p.Val322Ala* atau V322A) yang melakukan pemeriksaan pra marital status untuk CF. Mutasi ini menyebabkan substitusi basa timin (*thymine*) oleh sitosin (*cytosine*) pada posisi 965 di gen *CFTR*. Akibatnya terjadi penggantian sebuah asam amino di posisi 322 (valin digantikan oleh alanin).<sup>12</sup> Pria tersebut merupakan seorang calon ayah, dan pasangannya merupakan karier heterozigot F508del, sehingga keluarga ini memiliki risiko 25% untuk memiliki keturunan *compound heterozygote* mutasi V322A dan mutasi F508del. Mutasi

F508del telah lama diketahui sebagai mutasi *CFTR* yang paling banyak ditemukan dan menyebabkan manifestasi klinis CF yang berat.<sup>1, 13</sup> Sehingga, dalam hal ini, informasi mengenai efek dari mutasi V322A merupakan hal yang penting untuk diberikan dalam konseling genetika terhadap keluarga tersebut. Namun, sejak mutasi V322A diidentifikasi pada tahun 1995,<sup>12</sup> belum ada studi yang meneliti tentang efek mutasi tersebut terhadap ekspresi protein *CFTR*. Pada penelusuran *software* dengan menggunakan Polyphen-2 dan juga SWISS MODEL Workspace, didapatkan hasil yang tidak sesuai sehingga penelitian mengenai ekspresi protein *CFTR* dari mutasi *missense* V322A ini dilakukan.

## **1.2 Pertanyaan Penelitian**

Apakah mutasi *missense* V322A mengakibatkan kelainan pada ekspresi protein *CFTR*?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi ekspresi protein *CFTR* yang merupakan efek dari mutasi *missense* V322A.

### 1.3.2 Tujuan Khusus Penelitian

1. Menganalisis efek mutasi V322A terhadap derajat maturasi dari protein CFTR.
2. Menganalisis apakah mutasi V322A dapat mengakibatkan perbedaan lokasi protein CFTR dalam sel.
3. Mengevaluasi efek mutasi V322A terhadap aktivitas CFTR sebagai kanal klorida.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Mendeskripsikan efek mutasi V322A terhadap ekspresi protein CFTR.
2. Menggolongkan mutasi V322A ke dalam salah satu kelas pada mutasi *CFTR*.
3. Sebagai dasar untuk konseling genetika pada pasien dengan mutasi V322A gen *CFTR*.

### 1.5 Originalitas Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian yang pertama kali dalam menganalisis efek mutasi *missense* V322A terhadap ekspresi maturasi dan lokasi protein CFTR. Tabel 1 menampilkan daftar penelitian sebelumnya mengenai studi tentang mutasi V322A dan studi mengenai ekspresi protein CFTR pada mutasi *missense*.

Tabel 1. Daftar penelitian sebelumnya mengenai mutasi V322A pada gen *CFTR* dan metode untuk menganalisis ekspresi proteinnya.

No	Penulis	Judul Publikasi	Metode	Hasil
1.	Férec <i>et al</i> (1995, <i>Hum Genet</i> )	<i>Neonatal screening for cystic fibrosis: result of a pilot study using both immunoreactive trypsinogen and cystic fibrosis gene mutation analyses.</i>	32.300 bayi baru lahir diskriming dengan teknik <i>immunoreactive trypsinogen</i> (IRT) dilanjutkan dengan analisis mutasi gen <i>CFTR</i> .	Lima mutasi baru <i>CFTR</i> dapat teridentifikasi: V317A, V322A, R553G, 1806 del A, dan G544S.
2.	Fresquet <i>et al</i> (2011, <i>J Mol Diagnosis</i> )	<i>Orphan missense mutations in the Cytic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator: a three-step biological approach to establishing a correlation between genotype and phenotype.</i>	Tiga tahap <i>in vitro</i> dilakukan untuk mengevaluasi konsekuensi mutasi <i>CFTR</i> yang langka: identifikasi lokasi <i>CFTR</i> , maturasi protein dengan menggunakan Western blot, dan evaluasi aktivitas kanal <i>CFTR</i> . Efek seluler dan fungsional kemudian dibandingkan dengan data klinis pasien.	Analisis dengan menggunakan ketiga tahap evaluasi protein yang termutasi <i>missense</i> dapat meningkatkan kualitas konseling genetika pasien CF.