

HEMOGLOBINOPATI SEBAGAI MODEL PENYAKIT GENETIK

Oleh :
Dr. Henny Kartikawati. D

Pembimbing :
Prof. Dr. Ag. Sumantri

Magister Ilmu Biomedik
Universitas Diponegoro
2001

Hemoglobinopati sebagai model penyakit genetik

PENDAHULUAN

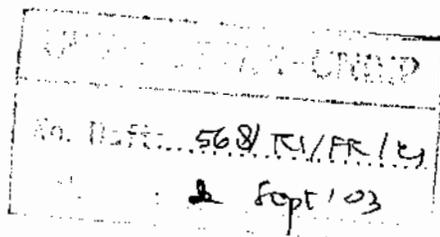
WHO memperkirakan 7 % dari populasi dunia akan merupakan carrier/ pembawa dari penyakit Hemoglobinopati. Penyakit-penyakit ini mengakibatkan kondisi yang cukup serius pada penderita, disebabkan karena sel darah merah tidak mampu membawa oksigen ke jaringan secara normal. Padahal penyakit ini begitu banyak terjadi diantara penyakit-penyakit genetik yang terjadi pada manusia. Namun demikian pengobatan yang memuaskan belum ditemukan, sehingga prenaatl diagnosis dan deteksi bagi carrier/ pembawa merupakan solusi yang bermakna dalam mengatasi penyakit ini di masa depan.

Pada beberapa kasus seperti pada sickle cell anemia, struktur yang abnormal dari molekul hemoglobin yang diduga menjadi penyebabnya⁽²⁾. Beda dengan Thalassemia yang penyebabnya adalah kekurangan rantai globin pembentuk hemoglobin (Hb), baik rantai globin α (Thalassemia α , Thal α) maupun rantai β (Thalassemia β , Thal β)⁽¹⁾

Penyakit Genetik

Sekitar 4000 penyakit pada manusia diperkirakan penyebabnya adalah adanya perubahan pada gen tunggal. Sebagian besar tidak menampilkan gejala yang berat, namun beberapa mengakibatkan kejadian fatal bahkan kematian. Walaupun penyakit genetik ini cukup jarang secara kasar hanya 2 % dari angka kelahiran dan saat ini belum ada tindakan yang efektif untuk mengobatinya.

Sebagian besar kelainan genetik disebabkan karena gen yang diturunkan pada orang tua dan akibat dari mutasi gen. Bagaimanapun juga, tidak semua kelainan genetik bisa diturunkan. Beberapa kelainan DNA dan kromosom justru muncul pada saat pembentukan sel sex (ovum dan sperma) atau pada saat perumbuhan awal dari janin. Salah satu contohnya adalah Down syndrome, yang menyebabkan retardasi mental, dan kelainan klinis lainnya. Penyakit ini muncul karena adanya kesalahan pada waktu pembelahan sel (meiosis) yang mengakibatkan sang bayi mempunyai 47 kromosom yang



seharusnya 46. Salah satu kromosom yaitu yang nomor 21 (kromosom 21) mengalami duplikasi.(1)

Karena penyakit genetik tidak dapat diatasi seperti halnya penyakit infeksi, beberapa orang lebih menyukai penyakit genetik ini disebut dengan "sindrom" atau "disfungsi".

Sickle Cell Anaemia

Suatu penyakit genetik yang sangat banyak ditemukan adalah sickle cell anaemia. Penderita penyakit ini mempunyai bentuk sel darah merah yang berlainan bentuknya dimana mengakibatkan konsentrasi oksigen yang dibawanya menjadi rendah.

Hemoglobin dewasa yang normal terdiri dari 2 rantai globin α , masing-masing terdiri dari 140 asam amino; dan 2 rantai globin β masing-masing terdiri dari 146 asam amino. Keadaan ini terjadi akibat satu asam amino pada rantai globin β yang seharusnya asam glutamat digantikan oleh valin.(2)

Thalassemia

Thalassemia disebabkan adanya kekurangan rantai globin pembentuk hemoglobin (Hb), baik rantai globin α (Thalassemia α , Thal α) maupun rantai β (Thalassemia β , Thal β).⁽¹⁾ Sedangkan kekurangan rantai globin tersebut dapat disebabkan oleh :

- a. Gangguan pada tingkat mRNA yang menimbulkan gangguan pada sintesis rantai globin.
- b. Pembentukan rantai globin yang tak normal, sehingga tak berfungsi atau mudah rusak (tak stabil).(1)

Thalassemia termasuk penyakit akibat gangguan gen tunggal (single gene disorders) dengan pola pewarisan yang mengikuti hukum-hukum Mendel (*Mendelian inheritance*). Gangguan yang berupa kekurangan rantai globin tersebut menimbulkan serangkaian gejala klinik dan laboratorik, yang dapat ditemukan melalui pemeriksaan klinik dan laboratorik. Namun pada penderita-penderita tertentu gejala klinis maupun fisik sangat minim bahkan tidak ada. Keadaan ini didapatkan pada penderita heterozygot. Dalam keadaan seperti itu diagnosa hanya dapat ditegakkan melalui analisa DNA. Inilah yang dimaksud dengan diagnosis molekuler, yaitu diagnosis yang langsung menunjukkan kelainan DNA pada penderita. Diagnosis molekuler juga diperlukan karena ada penderita

yang menunjukkan kelainan gejala klinis yang sama tetapi terjadi karena kelainan genetik yang berbeda.

Walaupun kelainan genetik penyebab Thalassemia sangat beragam, namun hanya ada 2 mekanisme saja yang dapat menimbulkannya, yaitu mutasi dan persilangan tak berimbang (Unequal crossover).

Kemungkinan seorang anak lahir dan menderita Thalassemia mayor (bentuk paling serius dikenal sebagai β -Thalassemia atau Cooley Disease) adalah 25 % jika kedua orang tuannya sama-sama pembawa⁽²⁾

Hemoglobin manusia

Haemoglobin adalah suatu protein tetramerik (protein yang terdiri dari 4 rantai polipeptida). Pada manusia dewasa hemoglobin utama (mayor) disebut Hb A, yang terdiri dari 2 rantai α dan 2 rantai β . Selain Hb A pada manusia dewasa terdapat hemoglobin pendamping (minor) yang disebut Hb A2. Hb A2 terdiri dari 2 rantai α dan 2 rantai δ . kadar Hb A2 pada orang dewasa + 2 %.

Pada bayi (neonatus) dan janin (embrio) terdapat bentuk hemoglobin lain yaitu Hb F (hemoglobin fetal) dan hemoglobin embrional : Hb Gowers 1, Hb Gowers2 dan Hb Portland. Komposisi masing-masing hemoglobin tersebut adalah sebagai berikut :

Hb F	: alfa 2 gama2	= $\alpha_2\gamma_2$
Hb Gowers 2	: alfa2epsilon2	= $\alpha_2\epsilon_2$
Hb Gowers 1	: zeta2epsilon2	= $\zeta_2\epsilon_2$
Hb Portland	: zeta2 gama2	= $\zeta_2\gamma_2$

Hb F bertahan sampai bayi berumur 20 minggu post partum. Pada manusia dewasa normal Hb F masih ditemukan walaupun dalam jumlah yang sangat kecil (kurang dari 1 %). Hemoglobin embrional hanya bertahan sampai umur janin 10 minggu saja . Disamping Hemoglobin "normal " ditemukan juga hemoglobin abnormal yaitu Hb H (β_4) dan Hb bart's (γ_4) yang ditemukan pada thalassemia α dan merupakan tanda khas dari penyakit ini⁽³⁾

Gen-gen penentu rantai globin

Rantai globin dapat dibagi menjadi 2 kelompok yaitu :

1. Kelompok α (alpha like) terdiri dari rantai alfa dan zeta
2. Kelompok β (beta like) terdiri dari rantai b, gamma, delta dan epsilon

Kedua kelompok tersebut ditentukan oleh kelompok gen (gene cluster) yang terletak pada kromosom yang berbeda. Yaitu masing-masing pada kromosom 16 untuk kelompok α dan kromosom nomor 11 untuk kelompok β .

Kelompok gen α pada kromosom 16 mengandung 2 gen ζ (satu diantaranya pseudogen) dan 3 gen α (satu diantaranya pseudogen). Pseudogen adalah gen yang strukturnya mirip sekali dengan gen "asli" tetapi tidak menghasilkan protein fungsional dan ditandai dengan awalan psi (ψ).

Urutan gen pada kromosom 16 (5' - 3') adalah :

ζ (zeta) -- (ψ -zeta) -- $\psi\alpha 1$ (psi-alpha1) -- $\alpha 1$ (alfa1) -- $\alpha 2$ (alfa2).

Sedangkan urutan gen pada kromosom 11 adalah :

ϵ (epsilon) -- $G\gamma$ (G-gamma) -- $A\gamma$ (A-gamma) -- $\psi\beta$ (psi beta) -- δ (delta) -- β (beta).

Gen $G\gamma$ dan $A\gamma$ menghasilkan 2 rantai γ yang hanya berbeda pada asam amino posisi 131 yaitu masing-masing ditempati oleh glisin ($G\gamma$) dan alanin ($A\gamma$).

Thalassemia α

1. Tipe Thalassemia α

Karena tiap individu mengandung sepasang autosom maka individu normal mengandung empat gen α yang menghasilkan protein dalam jumlah yang sama.

Thalassemia α dapat dibagi menjadi 2 kelompok yaitu :

- a. tipe delesi (delesional α Thalassemia)
- b. tipe non delesi (non delesional α Thalassemia)

- c. Mutasi yang menyebabkan perubahan kerangka baca (frame-shift) sehingga menghasilkan protein yang tak berfungsi.
- d. Mutasi yang menyebabkan timbulnya rantai α globin yang tidak stabil dan mudah dipecah oleh endopeptidase sel. Contoh : Hb Quong Sze, Hb Constant Spring.

2. Dasar Gejala Klinis pada Thalassemia α

Seperti telah dijelaskan di atas, gejala klinis yang timbul tergantung pada jumlah gen α yang masih utuh. Gejala klinis yang timbul pada dasarnya disebabkan oleh anemia dan hipoksia. Anemia timbul karena kadar hemoglobin normal (Hb A) menurun akibat kurangnya rantai globin α . Kekurangan rantai globin α menyebabkan ketidak-sesuaian dengan pasangannya pada rantai β dan rantai γ . Rantai β dan rantai gamma yang berlebih tersebut kemudian membentuk Hb H (β_4) dan Hb Bart's (γ_4). Hb H dan Hb Bart's walaupun dapat mengikat oksigen tetapi tak mudah melepaskannya kembali seperti hemoglobin normal. Maka sebagai akibatnya timbul Hipoksia. Disamping karena kekurangan Hb A, anemia juga timbul akibat destruksi eritrosit yang berlebihan.

3. Heterogenitas Genetik Thalassemia α

Walaupun gejala klinis sama namun dipandang dari segi genetik penyebab Thalassemia α adalah sangat heterogen. Seperti sudah diuraikan di atas, Thalassemia α dapat terjadi karena Haplotip $\alpha^{-/-}$, $\alpha\alpha^T$, $\alpha^T\alpha^T$ dan α^T- . Heterogenitas gen α^T sudah diuraikan di atas. Pada haplotip $\alpha^{-/}$, gen yang $\alpha 2$ (delesi gen $\alpha 1$, rightward deletion). Delesi 2 gen α (haplotip $-/-$) juga sangat heterogen. Dikenal contoh-contoh dimana delesi tidak hanya menyangkut gen $\alpha 1$ dan $\alpha 2$ tetapi mencakup juga gen $\psi \alpha$, gen $\psi \zeta$ bahkan gen ζ .⁽²⁾

4. Thalassemia β

Thalassemia β timbul karena adanya kekurangan rantai globin b. Gen thalassemia β disebut β^T . Karena berbeda dengan gen α (tiap kromosom hanya mengandung 1 gen β) maka haplotip yang timbul adalah $\beta/$ dan $\beta^T/$ dengan genotip :

- β / β normal
- β / β^T Thal-b heterozigot
- β^T / β^T Thal-b homozigot

Berdasarkan jumlah rantai β fungsional yang terbentuk, dapat dibedakan :

- Thal- β^0 Tak ada rantai β fungsional
- Thal- β^+ Ada rantai β fungsional walaupun sedikit

5. Kelainan Genetik pada Thalassemia β

Berbeda dengan Thalassemia α , Thalassemia β lebih banyak disebabkan oleh mutasi (khususnya mutasi titik) walaupun diketahui ada 2 bentuk Thalassemia β yang disebabkan oleh persilangan tak seimbang.

5.1 Thalassemia β karena persilangan tak seimbang

- a. Keadaan ini dapat menyebabkan delesi (sebagian) dari gen β atau menimbulkan gen gabungan (fusion genes) $\delta\beta$, keduanya menghasilkan fenotip Thal- β^0 . Hemoglobin yang dihasilkan oleh gen gabungan $\delta\beta$ disebut Hb Lepore.

- b. Thalassemia β karena mutasi titik

Mutasi titik dapat terjadi pada berbagai tempat dan menimbulkan akibat yang berbeda-beda (lihat tabel 1)

- c. Thalassemia β berbentuk kompleks (Complex β Thalassemia) dan hereditary Persistent Hb F (HPHF).

Persilangan tak seimbang dapat menimbulkan delesi tidak saja gen β tetapi juga gen-gen lain dalam kelompok gen β seperti gen α , G- γ dan A- γ tergantung lebarnya delesi. Bentuk-bentuk ini disebut Thal- β bentuk kompleks. Contohnya dapat dilihat pada tabel 2. ($\delta\beta$)⁰

Thal dan (A- $\gamma\delta\beta$)⁰. Thal hanya dijumpai kenaikan kadar Hb F saja.

Hereditary Persistent Hb F (HPHF). Penderita HPHF menunjukkan kadar Hb F lebih tinggi dibanding dengan penderita Thalassemia F,

penyebabnya belum diketahui. Penderita ($\gamma\delta\beta$)⁰ belum pernah ditemukan, mungkin karena ketiadaan total Hb F menyebabkan janin mati in utero.

Bentuk kompleks ini biasanya hanya memberikan gejala yang ringan karena ketiadaan gen β menyebabkan Hb F terus diproduksi sampai dewasa.

6. Dasar Gejala Klinis Thalassemia β

Kekurangan rantai β menyebabkan anemia karena jumlah Hb A yang rendah. Sebagai usaha kompensasi maka terbentuklah Hb F ($\alpha_2\gamma_2$) dan HbA2 ($\alpha_2\delta_2$) sehingga ciri khas dari Thal- β adalah kenaikan Hb F dan atau HbA2. Rantai α yang berlebih berbeda dengan rantai β dan s tidak dapat membentuk tetramer (α_4) dan mengendap membentuk butir-butir heinz (Heinz Bodies). Pengendapan rantai tersebut juga dapat merusak membran dan menimbulkan bentuk eritrosit tidak normal (poikilositosis) yang menyebabkan eritrosit mudah dirusak dan memperberat anemia. Sama halnya pada Thal α , Thal β juga dapat bervariasi dari yang paling ringan (Thal minor) sampai paling berat (Thal mayor) dan bentuk antara Thal intermedia,

Tabel 1 : Mutasi penyebab Thalassemia β

Letak mutasi	Akibat	Fenotip
a. promotor	Transkripsi turun	β^+
b. 5'UT		
- cap site	MRNA tak stabil	β^0
- initiation codon	Translasi tak terjadi	β^0
c. ekson (1,2 dan 3)	Abnormal splice site	β^+ atau β^0
	Frame shift	β^0
	Prmature termination	β^0
	Protein labil	β^0
d. intron (1 dan 2)	Abnormal splice site	β^+ atau β^0
e. 3' UT		
- polyadenilation signal	MRNA tak stabil	β^0

Berat atau ringannya gejala tergantung dua faktor yaitu :

- a. Fenotip gen β^+ atau β^0
 - c. Heterozigot atau homozigot
 - d. Hubungan antara bentuk kelainan genetik dengan gejala-gejala klinis dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 2. Thal- β bentuk kompleks

Gen yang hilang	Nama
B, δ	$(\delta\beta)^0$ Thal
B, δ , γ	$(A-\gamma,\delta,\beta)^0$ Thal
B, δ ,A- γ ,G- γ	$(\gamma\delta\beta)^0$ Thal

Dari tabel 2 dan 3 dapat dilihat betapa Thal β sangat heterogen dipandang dari segi genetik . Bentuk Thalassemia Intermedia dapat juga terjadi bila ada interaksi dengan Thalassemia α . Kombinasi kekurangan rantai β dengan kekurangan rantai α mengurangi gangguan perbandingan (rantai α) : (rantai β) dan memperingan gejala.

Tabel 3 : Klasifikasi Klinis Thalassemia b

Klasifikasi klinis	Genotip	Fenotip
Thal minor	β/β^+	β/β^+ β/β^0
Thal intermedia	β^+/β^+	β^+/β^+ β^+/β
Thal Mayor	β^+/β^+	β^0/β^0

Thalassemia δ dan γ

Kelainan ini disebabkan oleh delesi gen δ dan gen γ . Mekanisme terjadinya diperkirakan karena persilangan tak seimbang. Thalassemia δ dan γ tidak menimbulkan

gejala-gejala klinis (asimtomatik) sehingga sebenarnya sulit disebut "thalassemia".

Satu-satunya kasus thalassemia γ ditandai dengan delesi gen G-g disertai dengan adanya gen gabungan G- γ /A- γ . Gejala satu-satunya adalah kadar Hb F yang lebih rendah pada darah tali pusat (cord blood). Pada penderita dewasa hanya dijumpai Hb F (tanpa Hb A dan Hb A2) dalam kadar yang lebih rendah dibanding dengan yang terdapat pada penderita Thal F. Thal δ ditandai dengan ketiadaan Hb A2 (homozigot) atau kadar Hb A2 yang lebih rendah dari normal (heterozigot). Gejala-gejala lain tak ada.

Mutasi gen struktural yang menimbulkan rantai β atau α yang abnormal kadang disertai dengan fenotip Thalassemia . Penyebabnya adalah bahwa rantai abnormal tersebut kurang stabil sehingga sebagian terurai. Contoh : Hb Quong Sze, Hb constant Spring (Thal s), Hb E (Thal β). Gejala-gejala yang timbul biasanya hanya ringan kecuali bila terdapat heterozigot ganda dengan gen Thalassemia.

Pada saat ini pengobatan hemoglobinopati yang dilakukan pada level defek DNA belum bisa dilakukan.

Daftar Pustaka

1. Suryohudoyo. P; Kapitaselkta Ilmu Kedokteran Molekuler; CV Sagung Seto ;Jakarta ; Indonesia ;2000; 17-30.
2. Garvi W; Issues in Human Genetics; European Initiative for Biotechnology Education; NCBE, The University of Reading; United Kingdom; 1996 : 1-41
3. Kauffman E. Human genetics; Haemoglobin structure; BMS 655; March 2001;1-5
4. Loukopolous D, Haemoglobinopathies; Fifth Congress of European Haematology Assosiation ; Birmingham UK; 2000; 1-3
5. Galacteros F; Haemoglobin variant, sickle cell pathophysiologi and Diagnosis; ; Fifth Congress of European Haematology Assosiation ; Birmingham UK; 2000; 1-3