

Uji kelainan genetik

Darmono

Profesor riset bidang Toksikologi

Dewasa ini telah dikembangkan lebih dari seratus jenis uji genetik, diantaranya adalah uji genetik terhadap beberapa penyebab penyakit yang relatif sering ditemukan, misalnya sistik fibrosis dan penyakit genetik yang jarang ditemukan misalnya Marfan disease. Pada dasarnya uji genetik sangat berbeda dengan uji diagnostik penyakit pada umumnya, uji genetik ini relatif baru dan meliputi berbagai cara yang didahului dengan konsultasi mengenai adanya kelainan keturunan. Uji genetik ini berkembang dengan cepat dalam menolong pasien yang menderita kelainan keturunan, sehingga pasien mengerti mengenai proses uji genetik ini. Tujuan dari uji genetik sangat bervariasi, beberapa uji digunakan untuk konfirmasi hasil diagnosis sebelumnya yang dilakukan berdasar gejala yang timbul. Beberapa uji genetik dilakukan berdasar adanya dugaan resiko yang terjadi dan dapat berkembang menjadi penyakit genetik, walaupun seseorang merasa dirinya sehat pada saat ini (uji presimtomatik), dan uji genetik individu dan pasangannya yang mempunyai resiko melahirkan anak mungkin menderita gangguan keturunan (skreening karier). Sesuai dengan namanya, uji genetik adalah uji untuk melihat genetik seseorang yang terkandung dalam DNA. Setiap gen mengandung bahan kimia untuk menyusun protein yang sangat spesifik berfungsi untuk kehidupan fisiologik dari tubuh. Protein tersebut sangat dibutuhkan untuk kehidupan sebagai penyusun kelompok dalam sel dan jaringan tubuh, dimana mereka menghasilkan energi dan bertindak sebagai sarana supaya tubuh berfungsi normal.

Beberapa uji genetik dilakukan hanya melihat kelainan kromosomnya saja, atau melihat jumlahnya, kelebihan atau kekurangan kromosom. Kadang sebagian kromosom tertukar lokasinya, sehingga gen terhenti pada lokasi dimana secara permanen pada tempat yang tidak semestinya, yang mengakibatkan protein tidak dapat berfungsi. Seperti diketahui bahwa kromosom dibentuk oleh untaian rantai DNA yang panjang yang bercampur antara DNA aktif dan non-aktif. Gen dalam kromosom sangat berperan langsung untuk perkembangan sistem biologi tubuh dan yang aktif adalah sekitar 100 trilyun sel. Bila ada sesuatu yang salah protein esensial tersebut, akibatnya akan terjadi gangguan fisiologis yang parah. Misalnya pada protein yang disebut alfa-1 antitripsin (AAT), yang diproduksi oleh semacam bahan yang disebut "neutrophil elastase" berfungsi untuk membersihkan paru-paru. Bilamana bahan tersebut tidak dapat memproduksi AAT, yang disebabkan oleh terjadinya gangguan gen yang memproduksi protein yang bersangkutan, maka akan berkembang terjadinya gejala emfisema pulmonum dan terjadinya komplikasi penyakit lainnya. Hampir semua kondisi genetik yang mengalami mutasi akan terjadi kerusakan atau kesalahan dalam membentuk protein. Kondisi mutasi tersebut akan menyebabkan terjadinya penyakit, sehingga hal tersebut dinamakan penyakit genetik, seperti sistik fibrosis atau defisiensi AAT. Disamping itu kemungkinan juga terjadinya penyakit degeneratif, misalnya kanker dan penyakit jantung. Pada kasus seperti kanker, penyakit jantung, asthma, atau diabetes, adalah penyakit yang disebabkan oleh kombinasi antara faktor genetik, pengaruh lingkungan atau gaya hidup yang bersama-sama faktor-faktor tersebut saling mempengaruhi untuk memicu terjadinya penyakit.

Yang paling penting dalam uji diagnosis untuk penyakit genetik ini adalah konsultasi mengenai kemungkinan terjadinya resiko penyakit keturunan, sehingga uji genetik dapat lebih terarah. Ada

beberapa faktor yang diduga menyebabkan seseorang beresiko menderita penyakit kanker yang diturunkan (herediter) yaitu:

- Sejarah keluarga yang berpenyakit kanker: paling tidak ada tiga orang atau lebih dari keturunan keluarga kedua belah pihak (ayah/ibu) menderita kanker
- Onset awal: dua atau tiga orang yang masih ada hubungan keluarga, didiagnosis menderita kanker pada umur muda
- Lokasi yang banyak: dua atau lebih kanker timbul pada hubungan keluarga yang sama.

Ahli genetik merekomendasikan bahwa tes genetik perlu dilakukan dalam situasi sebagai berikut:

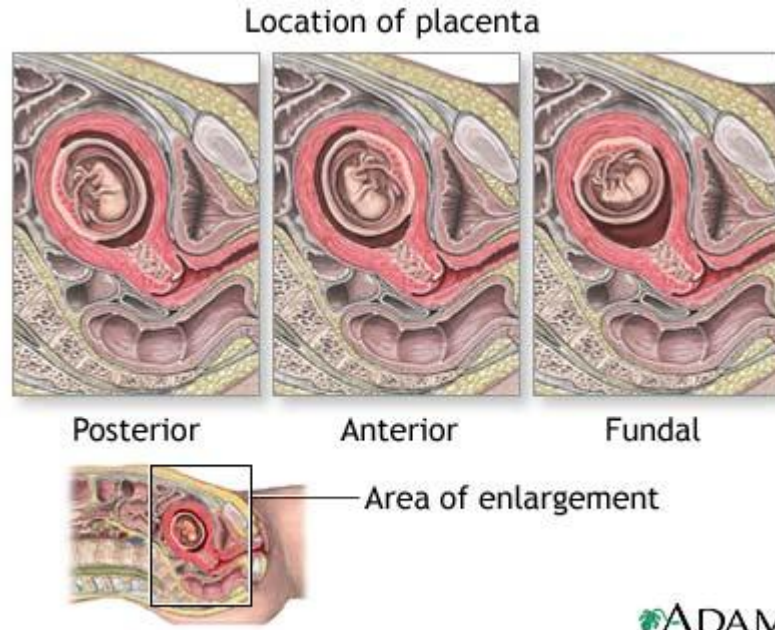
- Orang yang memiliki individu atau sejarah keluarga yang terindikasi adanya gejala kanker genetik
- Tes kondisi genetik dapat ditafsirkan secara memadai sesuai dengan gejala yang ada,
- Hasil uji genetik akan membantu dengan diagnosis, pengobatan, dan / atau pengelolaan pasien dan anggota keluarga yang beresiko kanker

Uji genetik pada bayi yang belum lahir (prenatal)

Pengambilan sampel untuk uji genetik pada bayi yang masih dalam kandungan (prenatal) dilakukan untuk mendiagnosis adanya kelainan genetik yang diturunkan atau terjadinya gangguan genetik secara spontan dari bayi yang akan dilahirkan. Uji yang paling sering digunakan adalah “ultrasonografi”, pengambilan sampel “chorionic villus”, “amniocentesis”, dan sampel darah dari “percutaneous umbilical”. Hampir semua uji tersebut dilakukan untuk memperoleh gambaran kemungkinan terjadinya resiko bagi pasangan baru mempunyai bayi yang menderita kelainan keturunan (terutama penyakit gangguan saraf/ “neural tube defect”) atau abnormalitas khromosom (terutama pada wanita pada usia 35 tahun keatas). Dewasa ini penggunaan ultrasonografi sudah banyak dilakukan untuk pemeriksaan secara rutin kondisi kehamilan atau bayi yang berada dalam kandungan.

Ultrasonografi

Uji atau pemeriksaan dengan menggunakan alat ultrasonografi sering dilakukan selama periode kehamilan, dan tidak menimbulkan resiko apapun bagi janin yang dikandung. Setelah masa kehamilan 3 bulan, ultrasonografi dapat digunakan untuk mendeteksi apakah fetus mempunyai kelainan bentuk atau tidak. Ultrasonografi sering digunakan untuk mengecek kondisi abnormalitas pada fetus bila ibu yang sedang hamil mengalami kandungan alfa-protein terlalu tinggi atau rendah dalam darahnya atau mempunyai sejarah keluarga yang mengalami gangguan waktu melahirkan. Tetapi kandungan hasil uji yang normal tidak menjamin mempunyai bayi yang normal, karena uji tersebut belum secara komplit dilakukan, dan uji lanjutan perlu dilakukan.



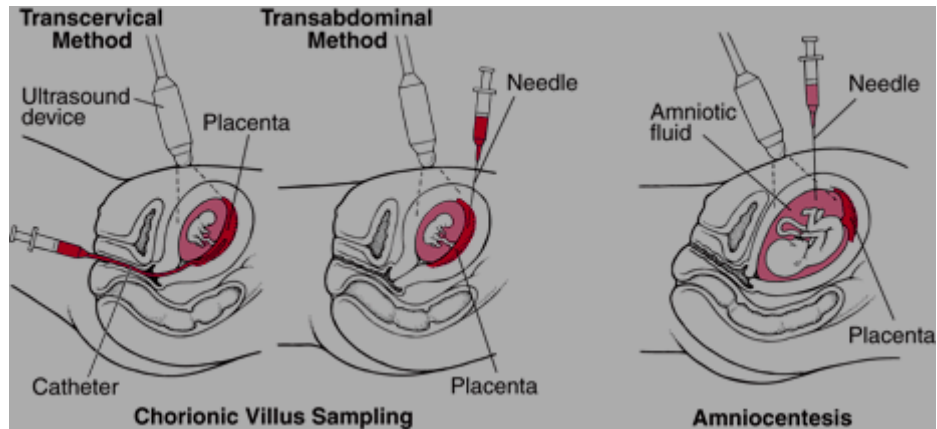
Gambar 10.1. Lokasi placenta dalam janin ibu hamil



Gambar 10.2. Hasil uji ultrasonografi pada bayi yang masih dalam kandungan

Uji “chorionic villus”

Pada pengambilan sampel chorionic villus, dokter mengambil sedikit sampel dari chorionic villi dengan menggunakan kateter kecil pada bagian dari plasenta (lihat gambar 10.3). Cara ini digunakan untuk mendiagnosis beberapa gangguan pada fetus, biasanya dilakukan diantara minggu ke 10 dan 12 masa kehamilan. Sampel chorionik villus diperlukan bila cairan plasenta akan diukur kandungannya alfafetoproteinnya.



Gambar 10.3. Metoda pengambilan cairan amnion pada fetus yang masih dalam kandungan.

Keuntungan pengambilan sampel dengan metode “chorionic villus” adalah dapat dilakukan pada masa kehamilan yang masih muda (minggu 10-12), sehingga bila ada kejadian abnormalitas akan dapat terdeteksi lebih awal. Bila terjadi kelainan dan perlu digugurkan maka risikonya akan lebih aman. Atau untuk deteksi awal bila terjadi ketidak normalan pada janin, sehingga dilakukan pengobatan terhadap fetus sebelum dilahirkan. Misalnya pada ibu hamil diberikan obat corticosteroid untuk memperoleh fetus laki-laki, karena bila fetus berkembang menjadi fetus perempuan akan menderita “congenital adrenal hyperplasia”. Pada gangguan keturunan tersebut, kelenjar adrenal membesar dan memproduksi hormon androgen yang berlebihan.

Sampel chorionic villi dapat diambil melalui serviks (transcervically, gambar 10.3, paling kiri), atau melalui dinding abdomen (transabdominally, gambar 10.3, tengah). Pada kedua metode tersebut ultrasonografi diperlukan untuk memandu, kemudian sampel dihisap dengan kateter masuk ke dalam siring, kemudian dianalisis. Bagi kebanyakan wanita, prosedur tersebut mirip dengan uji Pap smear (Papanicolaou smear test) beberapa wanita merasakan lebih mudah dan nyaman. Metode ini tidak dapat digunakan pada wanita yang memiliki kelainan tertentu dari leher rahim atau infeksi kelamin aktif, seperti herpes genital, gonorrhoe, atau peradangan kronis leher rahim. Untuk mengambil jaringan melalui dinding abdomen, dokter melakukan anestesi pada bagian kulit di atas perut dan memasukkan jarum melalui dinding perut ke dalam plasenta. Kebanyakan wanita tidak merasakan sakit dengan prosedur ini. Tapi bagi beberapa wanita, area di atas perut terasa sedikit sakit selama satu atau dua jam sesudahnya.

Setelah sampling chorionic vilus, sebagian besar wanita yang memiliki darah Rh-negatif dan yang tidak memiliki antibodi terhadap faktor Rh diberikan suntikan Rh0 (D) globulin imun untuk mencegah mereka dari memproduksi antibodi terhadap faktor Rh (pada Kehamilan Risiko Tinggi: Rh inkompatibilitas). Seorang wanita dengan darah Rh-negatif dapat memproduksi antibodi ini jika janin memiliki darah Rh-positif yang datang ke dalam kontak dengan darah antara ibu dan janin, selama chorionic sampling. Antibodi ini bisa menyebabkan masalah pada janin. injeksi ini tidak diperlukan jika ayahnya juga memiliki darah Rh-negatif, karena janin akan memiliki darah Rh-negatif. Risiko metoda vilus chorionic sampling bila dibandingkan dengan amniosentesis sama saja, kecuali bila terjadi risiko melukai tangan atau kaki janin mungkin sedikit lebih tinggi. Kemungkinan tersebut dapat terjadi pada 1 dari 3.000 janin, sehingga relatif jarang, diagnosis dengan metoda vilus chorionic sampling dan amniosentesis mungkin diperlukan pada kondisi tertentu. Secara umum, akurasi dari dua prosedur tersebut sebanding.

UJI “Amniocentesis”

Salah satu prosedur yang paling umum untuk mendeteksi kelainan gen sebelum kelahiran adalah amniosentesis. Dalam prosedur ini, sampel cairan yang mengelilingi janin (cairan ketuban) diambil. Amniocentesis biasanya dilakukan pada kehamilan 14 minggu atau setelahnya. Jika diduga tingkat alfa-fetoprotein tinggi dalam darah wanita hamil tersebut, prosedur ini sebaiknya dilakukan antara 15 dan 17 minggu umur kehamilan. Amniosentesis memungkinkan dokter untuk mengukur tingkat alfa-fetoprotein dalam cairan ketuban. Pengukuran ini bertujuan untuk mengetahui apakah janin memiliki cacat otak atau cacat sumsum tulang belakang berdasarkan dari pengukuran tingkat alfa-fetoprotein dalam darah wanita hamil tersebut

Prosedur pemeriksaan DNA

Uji DNA pekerjaan laboratorium yang mengikuti beberapa prosedur yang dilakukan melalui 6 tahapan.

Tahap 1: Isolasi DNA

DNA harus diperoleh dari sel atau jaringan tubuh. Hanya dalam jumlah sedikit jaringan seperti darah, rambut atau kulit yang bila perlu dapat dilakukan penggandaan dengan “Polimerase Chain Reaction” (PCR). Tetapi biasanya satu helai rambut sudah cukup untuk uji DNA fingerprint ini.



Gambar 10.4. Beberapa contoh jaringan yang dapat diambil untuk materi sidik DNA

Tahap 2: Memotong, mengukur dan mensortir

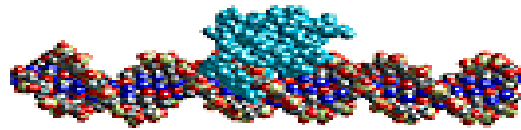
Enzim yang khusus disebut enzim restriksi digunakan untuk memotong bagian-bagian tertentu. Misalnya enzim Eco RI, yang ditemukan dalam bakteri coli akan memotong DNA yang mempunyai sequen GAATTC. Potongan DNA disortir menurut ukuran dengan teknik penyaringan disebut “elektrophoresis”. Potongan DNA dilewatkan gel yang dibuat dari agarose (diproduksi dari rumput laut). Teknik ini adalah setara dengan bioteknologi untuk screening memisahkan pita-pita menurut berat molekulnya

Tabel 11.1 Jenis enzim restriksi DNA dan sequen DNA yang direstriksi serta organisme asal enzim dibuat

Enzim	Organisme	sequen yang dikenal
<i>EcoRI</i>	<i>Escherichia coli</i>	GAATTC
<i>BamHI</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	GGATCC
<i>Bgl/II</i>	<i>bacillus globigii</i>	AGATCT
<i>PvuII</i>	<i>proteus vulgaris</i>	CGATCG
<i>PvuIII</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	CAGCTG
<i>HindIII</i>	<i>haemophilus influenzaeRd</i>	AAGCTT

<i>Hinf</i> I	<i>Haemophilus influenzae</i> Rf	GANTC*
<i>Sau</i> 3A	<i>Staphylococcus aureus</i>	GATC
<i>Alu</i> I	<i>Arthrobacter luteus</i>	AGCTT
<i>aq</i> I	<i>Thermus aquatus</i>	TCGA
<i>Hae</i> III	<i>haemophilus aegyptius</i>	GGCC
<i>Not</i> I	<i>Nocardia otitidis-caviarum</i>	GCGGCCGC

* N, dapat diisi nukleotida apa saja
 Sumber: Liddle dan Weeks, 1995



Gambar 10.5. Gambaran ilustrasi potongan DNA murni

Tahap 3: Transfer DNA ke nylon

Distribusi potongan DNA ditransfer pada sehelai nylon dengan menempatkan nylon diatas gel dan direndam selama 1 malam.



Gambar 10.6. Gambaran elektroforesis dari DNA (kiri) dan potongan DNA ditransfer ke nylon (tengah) dan proses perendamannya (kanan)

Tahap 4 dan 5: Probing

Dengan menambahkan radioaktiv atau pewarna probe pada sehelai nylon menghasilkan DNA fingerprint, Setiap probe seperti batang pendek (pita) hanya 1 atau 2 tempat yang khas pada helaian nylon tersebut.



Gambar 10.7 Pewarnaan atau probe dengan pewarnaan biasa (kiri) dan radioaktif (kanan)

Tahap 6: DNA Fingerprint

Tahapan akhir DNA fingerprint dibuat dengan menggunakan beberapa probe (5-10 atau lebih) Biasanya menyerupai pita-pita DNA.