

HUBUNGAN POLIMORFISME GEN ME2 DENGAN EPILEPSI IDIOPATIK UMUM DAN RESPON TERAPI VALPROAT

Risan, N.A., Sukadi, A., Achmad, T.H. dan Ismael, S.

Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Barat
E-mail: nellyrisan@yahoo.com**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk: (1) Mendeteksi polimorfisme rs585344, rs645088 dan rs642698, gen ME2 pada EIU anak tanpa epilepsi untuk menentukan adanya hubungan polimorfisme gen ME2 dengan EIU. (2) Menentukan jumlah proporsi hilangnya bangkitan 6 bulan setelah pengobatan valproat pada EIU dengan genotipe mutan dan genotip bukan mutan polimorfisme rs585344, rs645088 dan rs642698 gen ME2. Penelitian kasus-kontrol dilakukan selama periode Juli 2010 sampai April 2012 terhadap 92 subjek EIU usia awitan anak dan remaja di RS Hasan Sadikin Bandung, RS Cipto Mangunkusumo Jakarta dan RS St Borromeus Bandung, 336 subjek kontrol di RS Hasan Sadikin Bandung. Hasil penelitian dengan uji chi-kuadrat menunjukkan perbedaan bermakna proporsi genotip polimorfisme rs585344 gen ME2 antara EIU usia awitan anak dan remaja dengan kontrol ($p < 0,05$). Tidak terdapat perbedaan genotip polimorfisme rs645088 dan rs642698 gen ME2 EIU usia awitan anak dan remaja dengan genotip polimorfisme rs645088 dan rs642698 gen ME2 kontrol ($p > 0,05$). Didapatkan perbedaan bermakna genotip mutan polimorfisme rs585344, rs645088 dan rs642698 gen ME2 EIU usia awitan anak < 11 tahun dengan genotip mutan polimorfisme rs585344, rs645088 dan rs642698 gen ME2 EIU usia awitan anak ≥ 11 tahun (*age-dependent penetrance*).

Kata kunci: Epilepsi idiopatik umum (EIU), gen ME2, polimorfisme, valproat

ABSTRACT

This research intends to: (1) Detect polymorphism rs 585344, rs 645088, and rs 642698, ME2 gene in IGE children without epilepsy to determine the relationship between ME2 polymorphism and IGE. (2) To analyze the proportion of the seizure-free within six months after valproic acid treatment is less than the IGE with mutant genotype compared to IGE without mutant genotype rs585344, rs642698, and rs645088 ME2. The case-control study was done between the periode of July 2010 to April 2012 in 92 childhood and adolescence onset IGE patients at Hasan Sadikin, Cipto Mangunkusumo, and St. Borromeus, 336 control subjects at Hasan Sadikin Hospital. The result of this study with chi-square method shows significant difference of genotype polymorphism rs585344 ME2 proportion between childhood and adolescence onset IGE to control ($p < 0,05$). There was no difference between genotype polymorphism rs645088 and rs642698 ME2 in childhood and adolescence onset IGE and genotype polymorphism rs645088 and rs642698 ME2 gene in control ($p > 0,05$). Significant difference was obtained in mutant genotype polymorphism rs585344, rs645088 and rs642698 ME2 gene in childhood onset IGE < 11 years old with mutant genotype polymorphism

rs585344, rs645088, and rs642698 ME2 in childhood onset IGE > 11 years old.

Key words: Idiopathic generalized epilepsy (EIU), ME2 gene, polymorphism, valproate

PENDAHULUAN

Epilepsi merupakan salah satu gangguan neurologi kronis sebagai penyebab morbiditas terbanyak dan sering berhubungan dengan kualitas hidup lebih rendah, kesempatan mengikuti pendidikan formal, harapan mendapatkan pekerjaan yang lebih rendah, dan stigma sosial (WHO, 2001; Sander, 2003). Resiko kematian pada penderita epilepsi sering berkaitan dengan bangkitan pada situasi berbahaya sehingga terjadi kecelakaan seperti tenggelam, luka bakar, trauma kepala, dan status epileptikus. Laporan *World Health Organization* (WHO) tahun 2001, menyatakan bahwa insiden epilepsi adalah 50 per100.000 penduduk, sedangkan insiden di negara berkembang dilaporkan 2 kali lebih tinggi. Epilepsi idiopatik umum (EIU) merupakan salah satu sindrom epilepsi dengan prevalensi kurang lebih 20-30% dari seluruh epilepsi (Annegers, 1994; Zarreli, 1999). Data epidemiologi EIU di Indonesia belum pernah dilaporkan. Faktor genetik mempunyai peranan sangat kuat sebagai etiologi EIU, yang dibuktikan oleh beberapa hasil penelitian pada anak kembar. Pada penelitian anak kembar ditemukan *concordance rate* yang lebih tinggi pada kembar monozigot dibandingkan dengan kembar dizigot (0,76 vs 0,33). (Waeler, *at.al*, 2000) Telah banyak penelitian yang dilakukan untuk mencari mutasi gen yang mendasari faktor genetik EIU dan telah dilaporkan mutasi gen yang diduga berperan pada modulasi eksitabilitas neuron baik pada kanal ion maupun non-kanal ion. Diantaranya adalah gen pengkode kanal ion seperti gen *CLCN2*, *CACNA1H*, *GABRG2*, *GABRA1*, dan gen pengkode enzim pada jalur metabolisme neuron atau non-kanal ion seperti gen *ME2*, *LG14*, *OPRM1*, *GRIK1*, dan *EFHC1*. (Engel, 2001; Neobels, 2003)

Meskipun faktor genetik EIU telah banyak diteliti, namun sampai saat ini belum mendapatkan hasil yang jelas dan pada penelitian replikasi tidak mendapatkan bukti yang konsisten. Keadaan ini disebabkan oleh pola penurunan yang kompleks (*complex inheritance*), yaitu satu fenotip atau sub tipe EIU dipengaruhi oleh lebih dari 2 gen yang saling berinteraksi (*genotype heterogeneity*), masing-masing gen mempunyai pengaruh kecil (*low penetrance*) terhadap fenotip EIU (Tan, 2004; Greenberg, 2005) Interaksi beberapa gen ini dapat berbeda pada populasi atau etnik yang

berbeda, sehingga faktor etnik, kultur dan lingkungan mempunyai peranan penting dalam penelitian faktor genetik EIU. (*International League Against Epilepsy*, 1989; Berkovic, 1998). Latar belakang genetik akan terekspressi menjadi fenotip setelah melalui filter kultur dan lingkungan, sedangkan interaksi antara beberapa gen dengan faktor lingkungan masih perlu konfirmasi melalui penelitian lebih lanjut. Penelitian sebelumnya mendapatkan bukti bahwa lokus pada kromosom 18 merupakan lokus predisposisi untuk EIU, untuk menghasilkan fenotip subtype EIU diperlukan genotip pada lokus lain (Greenberg, 2005; Berkovic, 1998). Penelitian kasus kontrol pada populasi keturunan Eropa di Amerika mendapatkan bukti kuat bahwa terdapat hubungan alel dan *haplotype* antara *single nucleotide polymorphisms* (SNPs) gen *malic enzyme 2 (ME2)* yang terletak pada kromosom 18 dengan EIU usia awitan remaja. Greenberg, tahun 2004 mendapatkan hasil 9 SNP yaitu rs674351 (A), rs584087 (A), rs585344 (C), rs608781 (A), rs642698 (G), rs674210 (A), rs645088 (C), rs649224 (C), rs654136 (A) berhubungan dengan EIU usia awitan remaja (*adolescence onset*) 6 kali lebih besar dibandingkan dengan kontrol. Dari 9 SNP diatas terdapat 3 SNP pada regio gen *ME2* (rs585344, rs642698, rs645088), dengan χ^2 tertinggi. (Tan, 2004; Greenberg, 1992). Hasil penelitian ini membuktikan bahwa SNP pada gen *ME2* merupakan faktor predisposisi untuk EIU usia awitan remaja. (Neobels, 2003) Gen *ME2* kromosom 18q21 adalah gen pengkode enzim mitokondria yang berperan pada metabolisme piruvat sebagai prekursor neurotransmitter γ -*amino butyric acid* (GABA). Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian *linkage-mapping* lokus D18S474 kromosom 18q21.1 menunjukkan adanya hubungan SNP gen *ME2* dengan EIU. (Durner, *at.al.*, 2001). Hasil penelitian pada populasi di Itali, didapatkan hubungan antara kromosom 18 petanda D18S474 dengan EIU TK. (Berkovic and Hay, 1998) Lentzen, tahun 2005 melanjutkan penelitian Greenberg, meneliti gen *ME2*, dengan subjek penelitian EIU usia awitan anak dan remaja, di Jerman. Lentzen meneliti 6 SNP gen *ME2*, yaitu rs2850545, rs642633, rs645088, rs660363, rs649224, dan rs2156010, namun hasil penelitian ini tidak mendapatkan hasil yang konsisten dengan penelitian sebelumnya. Setelah mengabaikan faktor faktor penyebab gagalnya penelitian seperti jumlah subjek penelitian yang terlalu kecil, dan stratifikasi populasi, Lentzen menyimpulkan bahwa efek gen *ME2* terlalu kecil atau frekuensinya kurang untuk dapat terdeteksi pada populasi di Jerman (Berkovic, *et. al.*, 1998). Ketidaksesuaian hasil penelitian replikasi pada EIU dengan pola *complex inheritance* tidak berarti tidak terbukti adanya gen suseptibel. (*International League Against Epilepsy*, 1989) Mengingat pentingnya implikasi farmakogenetik dan berdasarkan hasil penelitian Greenberg, tahun 2004, yang telah mendapatkan SNP pada regio dengan nilai X^2 tertinggi, dapat disimpulkan bahwa perlu dilakukan penelitian hubungan polimorfisme gen *ME2* regio rs585344, rs645088, dan rs642698 dengan EIU usia awitan anak dan remaja. Munculnya suatu penyakit

pada usia tertentu atau usia awitan ditentukan oleh interaksi genetik dengan lingkungannya. Dapat disimpulkan bahwa hasil penelitian hubungan gen *ME2* dengan EIU usia awitan remaja belum ada kesesuaian, sedangkan hubungan gen *ME2* dengan EIU usia awitan anak belum terbukti, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian hubungan polimorfisme gen *ME2* dengan EIU usia awitan anak dan remaja.

Selain faktor genetik yang belum jelas, pengobatan EIU adalah berdasarkan pada bukti klinis dan hasil penelitian efikasi obat, tidak berdasarkan pada mekanisme molekular yang mendasarinya. Angka remisi EIU lebih baik dibandingkan dengan sindrom epilepsi lainnya, namun prognosis jangka panjang belum memuaskan, angka rekurensi masih tinggi dan perlu pengobatan seumur hidup. Untuk menjawab tantangan diatas diperlukan penelitian hubungan faktor genetik dengan respon terapi lebih lanjut. Berdasarkan hasil analisis obat antiepilepsi berbasis bukti, valproat merupakan obat pilihan pertama untuk EIU yang direkomendasi oleh ILAE (*International League Against Epilepsy*). Valproat terbukti efektif untuk mengatasi bangkitan absens, mioklonik dan tonik-klonik. Dibandingkan dengan obat pilihan pertama yang lain, valproat memiliki respons terapi lebih baik dengan angka *responder rate* lebih tinggi (66% vs 45%) (Lenzen, *at.al.*, 2005)

Beberapa penelitian melaporkan angka remisi epilepsi berkisar pada 65-70%, angka remisi EIU lebih baik dibanding sindrom epilepsi lainnya yaitu 72-80% (Wheless, 2002; Koutroumanidis, 2005). Meskipun respon terapinya baik, namun sekitar 15-20% EIU mempunyai prognosis kurang baik yaitu mengalami rekurensi setelah penghentian obat atau perlu minum obat seumur hidup. Faktor yang berhubungan dengan prognosis baik diantaranya adalah respon terapi inisial terhadap obat antiepilepsi pertama, yang dapat ditentukan dengan menilai bebas bangkitan pada 6 bulan setelah pengobatan. Sampai saat ini belum ada penelitian mengenai hubungan gen pengkode target obat anti-epilepsi GABA dengan respons terapi valproat sebagai obat pilihan pertama untuk EIU.

Mengingat pentingnya Implikasi polimorfisme gen *ME2* terhadap EIU usia awitan anak yang belum berhasil dibuktikan, dan awitan usia remaja yang masih perlu dilakukan penelitian untuk konfirmasi serta potensi perkembangan farmakogenetik yang belum pernah dilakukan, maka perlu dilakukan penelitian hubungan polimorfisme gen *ME2* dengan EIU usia awitan anak dan remaja untuk konfirmasi analisis hubungan polimorfisme gen *ME2* dengan EIU usia awitan anak dan remaja dan respon terapi valproat.

BAHAN DAN METODE

Subjek adalah pasien EIU subtype CAE, JAE, JME dan EIU TK yang datang ke Poliklinik Bagian Ilmu Kesehatan Anak, Rumah Sakit Dr. Hasan Sadikin, Bandung dan Poliklinik Bagian Ilmu Kesehatan Anak, Rumah Sakit Dr. Cipto Mangunkusumo Jakarta dari

tahun 2005-2011, yang memenuhi kriteria inklusi yaitu memenuhi kriteria diagnosis EIU sub tipe CAE, JAE, JME dan EIU TK berdasarkan Klasifikasi epilepsi dan sindrom epilepsi ILAE tahun 1989, mendapat obat monoterapi valproat sesuai dengan pedoman tatalaksana pengobatan epilepsi, bersedia mengikuti penelitian dan telah mendapatkan penjelasan, usia saat awitan 1-18 tahun, tidak menderita epilepsi untuk kelompok kontrol, dengan usia 1-18 tahun dan bertempat tinggal di Bandung, untuk kelompok kasus bertempat tinggal di Kotamadya dan Kabupaten Bandung atau di DKI Jakarta, selanjutnya dimasukkan kedalam kelompok kasus. Bentuk penelitian adalah kasus kontrol untuk menguji hipotesis 1, 2, dan 3. Untuk menguji hipotesis 4 dan 5 digunakan bentuk penelitian *cross sectional* retrospektif. Analisis statistik yang digunakan untuk menguji hipotesis 1, 2, dan 3 adalah *chi*-kuadrat, dan untuk menguji hipotesis 4 dan 5 adalah multiple regresi dengan iterasi dan *chi*-kuadrat.

Untuk menentukan besar sampel pada penelitian ini digunakan perangkat lunak *power for genetic association analyses* (PGA), dari hasil penghitungan komputasi menggunakan peranti lunak PGA didapatkan besar sampel kelompok kasus adalah 100 dan 200 kelompok kontrol. Pemilihan sampel kelompok kontrol dilakukan secara *consecutive admission*, yaitu berdasarkan urutan pasien datang di Departemen Ilmu kesehatan Anak RS Dr. Hasan Sadikin Bandung, kemudian semua pasien dilakukan wawancara secara detail serta dilakukan pemeriksaan fisis dan neurologis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari 120 subjek tersebut, yang ikut dalam penelitian untuk kelompok kasus adalah 92 orang. Pada kelompok kontrol didapat 236 subjek yang memenuhi kriteria penelitian. Seluruh subjek penelitian menjalani pemeriksaan DNA *sequencing* dan didapatkan hasil DNA *sequencing* yang baik sebanyak 87 subjek polimorfisme rs585344, 86 subjek polimorfisme rs645088, dan 87 subjek poli-morfisme rs642698 gen *ME2*. Kelompok kontrol yang dapat dilakukan analisis berjumlah 158 subjek polimorfisme rs585344, 157 subjek polimorfisme rs645088, dan 180 subjek polimorfisme rs642698 gen *ME2*.

Tabel 1. Karakteristik subjek penelitian kelompok kasus

Karakteristik	N	%
Jenis kelamin		
• Laki-laki	49	53,3
• Perempuan	43	46,7
Usia awitan rerata (tahun)	9,7	
Usia awitan anak (<11 th)	67	72,8
Usia awita remaja (> 11 th)	25	27,2
Riwayat epilepsi di keluarga	11	12
Riwayat kejang demam	12	13

Pada Tabel 1. terlihat bahwa proporsi jumlah subjek dengan jenis kelamin laki-laki dan perempuan tidak terlalu berbeda. Rentang usia awitan berkisar

antara usia 1-17 tahun, dengan jumlah subjek EIU usia awitan <11 tahun sebanyak 68 subjek dan subjek EIU usia awitan ≥ 11 tahun sebanyak 24. Terdapat 11 (12%) subjek dengan riwayat epilepsi dalam keluarga, 7 subjek sub tipe EIU TK, 3 subjek sub tipe CAE dan 1 subjek sub tipe JAE.

Tabel 2. Perbedaan Proporsi Genotip Polimorfisme rs585344 gen *ME2* pada Kelompok Kasus dan Kontrol

Variabel Kelompok	rs585344			*P
	CC	CT	TT	
Kasus	48(56,5%)	36(42,4%)	1(1,18%)	
Kontrol	75(58,1%)	45(34,9%)	9(7,0%)	<0,05
	p CC= 0,809	p CT= 0,270	p TT= 0,044	

*p = *chi kuadrat*

Tabel 2. memperlihatkan bahwa proporsi genotip polimorfisme rs585344 gen *ME2* kelompok kasus berbeda bermakna dibanding dengan proporsi genotip kelompok kontrol. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa proporsi genotip polimorfisme rs645088 gen dan rs642698 gen *ME2* pada kelompok kasus tidak berbeda bermakna dengan genotip polimorfisme pada kelompok kontrol.

Tabel 3. Hubungan *Haplotype* rs585344, rs645088, rs642698 Gen *ME2* dengan respon terapi <6 bulan setelah pengobatan valproat

<i>Haplotype</i>	Frekuensi	Estimasi	Nilai p
CCC	-0.4451	-0.2051	0.5585
CCT	-0.2042	-0.8909	0.0012
TCT	-0.1150	-0.1570	0.5358

Keterangan: *Haplotype* 3 SNP (CCC) adalah *haplotype* bukan mutan, CCT *haplotype* mutan rs642698, TCT *haplotype* mutan rs585344 dan rs642698

Tabel 3, memperlihatkan frekuensi kombinasi *haplotype* dengan 95% *confidence interval* (95% CI), berada pada equilibrium Hardy-Weinberg menggunakan program komputer HAPSTAT. Berdasarkan analisis *haplotype* rs 585344(T), rs645088 (C), rs642698(T) Gen *ME2* mempunyai efek terhadap respons terapi < 6 bulan setelah pengobatan valproat.

Berdasarkan hasil analisis data tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara proporsi respons terapi < 6 bulan setelah 6 bulan pengobatan valproat dengan respons terapi ≥ 6 bulan setelah 6 bulan pengobatan valproat pada kelompok genotip mutan dibandingkan dengan genotip bukan mutan polimorfisme rs585344, rs645088, maupun rs642698 gen *ME2*.

Tabel 4. menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada proporsi kelompok genotip mutan polimorfisme rs585344 (CT/TT), rs645088 (CT/TT), dan rs642698 (GT/TT) gen *ME2* usia awitan < 11 tahun dibanding dengan usia awitan ≥ 11 tahun. Frekuensi genotip mutan polimorfisme rs585344, rs645088, rs642698 gen *ME2* lebih tinggi bermakna

pada EIU usia awitan anak (< 11 tahun) dibandingkan dengan frekuensi genotip mutan EIU usia awitan remaja.

Tabel 4. Perbandingan proporsi genotip mutan polimorfisme rs585344, rs645088, rs642698 gen *ME2* berdasarkan EIU usia awitan anak < 11 tahun dan EIU usia awitan remaja \geq 11 tahun

Genotipe Gen <i>ME2</i>	Usia awitan		Nilai <i>P</i>
	< 11 tahun	\geq 11 tahun	
rs585344 • CT/TT	32	5	0.038
	• CC	30	
rs645088 • CT/TT	31	4	0.020
	• CC	34	
rs642698 • GT/TT	36	6	0.029
	• GG	26	

*p = chi kuadrat

Tabel 5 menunjukkan adanya perbedaan bermakna respon terapi valproat pada subjek EIU usia awitan anak <11 tahun kelompok genotip mutan dibandingkan dengan kelompok genotip bukan mutan polimorfisme rs585344 gen *ME2*. Proporsi respon terapi valproat <6 bulan pada kelompok genotip mutan lebih besar secara bermakna dibandingkan dengan kelompok bukan mutan polimorfisme rs585344 gen *ME2*.

Tabel 5. Perbedaan Respon Terapi Valproat Pada Subjek EIU Usia Awitan <11 tahun Kelompok Genotipe Mutan Dibandingkan Dengan Kelompok Genotipe Bukan Mutan Polimorfisme rs585344 Gen *ME2*

Kelompok Genotip	Respon Terapi Valproat		Nilai *p
	< 6 bulan	\geq 6 bulan	
CT/TT	20 (60,6%)	11 (37,9%)	< 0,05
CC	13 (39,4%)	18 (62,1%)	

*p = chi kuadrat

Tabel 6. Perbedaan Respon Terapi Valproat Pada Subjek EIU Usia Awitan < 11 tahun Kelompok Genotipe Mutan dibandingkan dengan Kelompok Genotipe Bukan Mutan Polimorfisme rs642698 Gen *ME2*

Kelompok Genotip	Respon Terapi Valproat		Nilai *p
	< 6 bulan	\geq 6 bulan	
GT/TT	21 (67,7%)	14 (45,2%)	< 0,05
GG	10 (32,3%)	17 (54,8%)	

*p = chi kuadrat

Tabel 6 menunjukkan adanya perbedaan bermakna respon terapi valproat pada subjek EIU usia awitan anak < 11 tahun kelompok genotip mutan dibandingkan dengan kelompok genotip bukan mutan polimorfisme rs642698 gen *ME2*. Kelompok genotip mutan menunjukkan proporsi respon terapi valproat < 6 bulan yang lebih besar secara bermakna dibandingkan dengan kelompok bukan mutan polimorfisme rs642698 gen *ME2*.

Dari hasil analisis data tidak terdapat perbedaan bermakna proporsi respon terapi valproat pada EIU

usia awitan anak \geq 11 tahun dan pada usia awitan < 11 tahun kelompok genotip mutan polimorfisme rs585344 gen *ME2* dibandingkan dengan kelompok genotip bukan mutan.

Hasil penelitian ini menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara proporsi genotip polimorfisme rs585344 gen *ME2* EIU usia awitan anak dan remaja dibanding dengan genotip kontrol yang tidak menderita epilepsi. Polimorfisme rs585344 yang terletak pada intergenik dekat dengan promoter gen *ME2* posisi 46.398.867 dapat mengakibatkan kesalahan perlekatan enzim RNA polimerase II pada daerah promoter saat inisiasi transkripsi mRNA. Terganggunya proses transkripsi mRNA akan berakibat pada ekspresi gen dalam jumlah yang lebih rendah, yaitu jumlah enzim malat dehidrogenase yang lebih rendah.

Pada penelitian ini frekuensi polimorfisme rs645088 dan rs642698 gen *ME2* penderita EIU usia awitan anak dan remaja tidak berbeda bermakna dengan frekuensi genotip anak dan remaja yang tidak menderita epilepsi. Keadaan ini bukan berarti polimorfisme rs645088 dan rs642698 gen *ME2* secara fungsional tidak berhubungan dengan EIU awitan anak dan remaja. Berdasarkan model oligogenik (*complex inheritance*), SNP yang berkontribusi pada munculnya penyakit adalah SNP yang secara normal (*common SNP*) ditemukan pada populasi yang tidak sakit, apabila *common SNP* berinteraksi dengan SNP pada lokus yang berbeda, dan menghasilkan kombinasi yang tidak menguntungkan, maka akan timbul penyakit. Oleh karena itu polimorfisme rs645088 dan rs642698 gen *ME2* apabila berinteraksi dengan SNP pada lokus yang berbeda dapat menghasilkan kombinasi SNP yang secara fungsional merupakan faktor predisposisi EIU usia awitan anak dan remaja. SNP pada intron gen *ME2* merupakan faktor risiko untuk terjadinya kesalahan proses *splicing* pre-mRNA menjadi mRNA, menghasilkan mRNA aberan, mengakibatkan sintesis enzim malat dehidrogenase dengan bentuk dan fungsi yang salah, sehingga sintesis GABA terganggu atau berkurang.

Pada hasil analisis pengaruh genotip mutan polimorfisme gen *ME2* terhadap usia awitan terlihat bahwa frekuensi genotip mutan polimorfisme rs585344, rs645088, dan rs642698 gen *ME2* lebih tinggi bermakna pada EIU usia awitan anak (< 11 tahun) dibandingkan dengan frekuensi genotip mutan EIU usia awitan remaja, sehingga polimorfisme rs585344, rs642698, dan rs645088 gen *ME2* merupakan faktor risiko terjadinya awitan usia anak pada EIU.

EIU merupakan sindrom epilepsi dengan manifestasi bangkitan dipengaruhi oleh usia awitan (*age dependent expression*). Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa polimorfisme gen *ME2* merupakan faktor predisposisi EIU dengan pola penurunan dipengaruhi kuat oleh usia awitan (*age-dependent penetrance*). Genotip mutan gen *ME2* mempengaruhi munculnya fenotip EIU pada usia anak < 11 tahun.

Polimorfisme rs585344 yang terletak pada daerah promoter gen *ME2* dapat mengakibatkan kesalahan perlekatan enzim RNA polimerase II pada daerah promoter saat inisiasi transkripsi mRNA. Terganggunya proses transkripsi mRNA akan berakibat pada ekspresi gen dalam jumlah yang lebih rendah, yaitu jumlah enzim malat dehidrogenase yang lebih rendah. (Kountoumanidis, 2005; Mc. Keena, 2006) Polimorfisme rs645088 dan rs642698 gen *ME2* yang terletak pada intron dapat mengganggu proses *splicing* saat transkripsi mRNA, sehingga dihasilkan ekspresi gen yaitu enzim malat dehidrogenase dengan fungsi yang kurang baik. Akibat enzim malat dehidrogenase yang tidak baik maka secara tidak langsung mengakibatkan GABA yang dihasilkan akan lebih sedikit dibandingkan dengan varian gen *ME2* yang bukan mutan. Apabila seorang individu mempunyai kombinasi genotip mutan polimorfisme rs585344, rs645088 dan rs642698 gen *ME2* akibatnya akan muncul penyakit epilepsi pada usia lebih muda.

Pada masa neonatus kebutuhan glukosa sangat sedikit, dan meningkat seiring dengan pertumbuhan otak bayi sampai mencapai keadaan yang sama dengan dewasa. Kadar glukosa bayi baru lahir relatif rendah, dan meningkat segera setelah mendapat air susu ibu (ASI). Keton merupakan substrat yang banyak digunakan sebagai sumber energi selama periode menyusui, hal ini sesuai dengan kadar lemak yang tinggi dalam ASI. Pada masa menyusui aktivitas enzim yang dibutuhkan untuk metabolisme oksidatif dengan glukosa sebagai substrat penghasil energi seperti piruvat dehidrogenase dan malat dehidrogenase masih rendah, sehingga otak bayi sangat tergantung pada keton sebagai sumber energi. Seiring dengan perkembangan otak bayi, terjadi peningkatan kadar enzim untuk metabolisme oksidatif dan substrat piruvat melalui siklus Krebs dan meningkatnya aktivitas enzim pada jalur malat-aspartat. Jalur malat-aspartat melibatkan enzim malat dehidrogenase dan aspartat aminotransferase sitosol, maupun mitokondria di dalam otak. Aktivitas jalur malat aspartat meningkat dalam neuron dan sinap terminal seiring dengan perkembangan sinapto-genesis. Aktivitas jalur malat-aspartat jauh lebih tinggi di dalam neuron dibandingkan dengan astrosit, hal ini sesuai dengan keterlibatan jalur ini dalam sintesis neurotransmitter glutamat dan GABA. Aktivitas jalur malat-aspartat terganggu pada keadaan hipoksik iskemik ensefalopati atau keadaan patologis lain. Terganggunya aktivitas jalur malat-aspartat akan mengurangi kemampuan neuron untuk menggunakan laktat sebagai substrat alternatif penghasil energi.

Pada penelitian ini proporsi hilangnya bangkitan (respons terapi) < 6 bulan setelah pengobatan valproat tidak berbeda bermakna pada EIU usia awitan anak dan remaja dengan genotip mutan dibandingkan dengan genotip bukan mutan polimorfisme rs585344, rs645088, dan rs642698 gen *ME2*. Pada hasil analisis *haplotype* rs585344 (T), rs645088 (C), dan rs642698 (T) menunjukkan adanya efek terhadap respons terapi < 6 bulan setelah pengobatan valproat. Keadaan ini

dapat dijelaskan karena polimorfisme rs585344 (T) rs645088 (C) dan rs642698 (T) berada dalam 1 blok *haplotype*, sehingga efek gen terhadap fenotip akan muncul apabila terjadi interaksi diantara ketiga SNP. Valproat merupakan obat anti epilepsi yang terbukti memiliki efikasi paling baik untuk EIU. Mekanisme kerja Valproat adalah dengan meningkatkan fungsi GABAergik melalui 3 cara, yaitu: 1) dengan meningkatkan enzim GAD sehingga terjadi peningkatan sintesis GABA dari substrat glutamat, 2) menghambat transaminase GABA oleh GABA-T dan 3) menghambat *succinic semialdehyde dehidrogenase* menjadi *succinate*. Melalui mekanisme GABAergik agonis valproat terbukti dapat meningkatkan kadar GABA di otak, sehingga fungsi inhibisi neuron GABAergik meningkat. Mekanisme valproat yang lain yaitu melalui kanal ion kalsium tipe T adalah mekanisme minor, oleh karena itu sulit untuk diteliti. Belum ada bukti penelitian sebelumnya mengenai farmakogenetik pada EIU khususnya obat anti epilepsi valproat.

Pada penelitian ini tidak terdapat perbedaan bermakna antara proporsi respon terapi valproat < 6 bulan dan ≥ 6 bulan setelah pengobatan valproat pada kelompok genotip mutan polimorfisme rs585344, rs645088, dan rs642698 gen *ME2* dibandingkan dengan genotip bukan mutan polimorfisme rs585344, rs645088, dan rs642698 gen *ME2*. Dari hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan bermakna respon terapi valproat pada subjek EIU usia awitan anak < 11 tahun kelompok genotip mutan polimorfisme rs585344 gen *ME2* dibandingkan dengan kelompok genotip bukan mutan. Kelompok genotip mutan menunjukkan proporsi respon terapi valproat < 6 bulan yang lebih besar secara bermakna dibandingkan dengan kelompok bukan mutan polimorfisme rs585344 gen *ME2*. Namun, tidak terdapat perbedaan bermakna proporsi respon terapi valproat pada subjek EIU usia awitan remaja ≥ 11 tahun kelompok genotip mutan dibandingkan dengan kelompok genotip bukan mutan polimorfisme rs585344 gen *ME2*.

Berdasarkan bukti diatas, maka polimorfisme rs585344 gen *ME2* merupakan faktor penentu EIU usia awitan anak dan proporsi hilangnya bangkitan < 6 bulan setelah pengobatan valproat lebih besar pada kelompok genotip mutan dibandingkan dengan bukan mutan. Polimorfisme rs585344 gen *ME2* yang terletak pada daerah promoter gen *ME2* mempunyai risiko untuk terjadinya kesalahan pembentukan mRNA matur akibat kesalahan pada proses transkripsi sehingga jumlah enzim malat dehidrogenase yang dihasilkan lebih rendah dibandingkan dengan ekspresi enzim pada genotip bukan mutan. Respon terapi obat anti epilepsi ditentukan oleh cepatnya diagnosis EIU ditegakkan, apabila cepat mendapat pengobatan valproat, sehingga mekanisme kompensasi untuk menutupi kekurangan piruvat sebagai substrat sumber energi dengan menggunakan jalur metabolisme oksidatif lain belum digunakan.

Meskipun polimorfisme rs642698 gen *ME2* tidak terbukti berhubungan dengan EIU usia awitan anak dan remaja namun genotip mutan polimorfisme rs642698 gen *ME2* berhubungan dengan respon terapi < 6 bulan setelah pengobatan valproat pada EIU usia awitan anak. Keadaan ini dapat dijelaskan oleh adanya *linkage disequilibrium* antara polimorfisme rs585344 dengan rs642698 gen *ME2*, sehingga polimorfisme rs642698 gen *ME2* memberikan efek terhadap respons terapi < 6 bulan pada kelompok EIU usia awitan anak. Kelemahan pada penelitian ini adalah stratifikasi kelompok kontrol tidak berkesesuaian dengan kelompok kasus.

SIMPULAN

Polimorfisme rs585344 gen *ME2* berhubungan dengan EIU usia awitan anak dan remaja; Polimorfisme rs645088 gen *ME2* tidak berhubungan dengan EIU usia awitan anak dan remaja; Polimorfisme rs642698 gen *ME2* tidak berhubungan dengan EIU usia awitan anak dan remaja; *Haplotype* rs585344, rs645088 dan rs642698 menunjukkan adanya efek terhadap respons terapi < 6 bulan setelah pengobatan valproat; Tidak terdapat perbedaan respons terapi setelah 6 bulan pengobatan valproat antara genotip mutan polimorfisme rs585344, rs645088, rs642698 dengan genotip bukan mutan gen *ME2*. Terdapat hubungan genotip mutan polimorfisme rs585344, rs645088 dan rs642698 gen *ME2* dengan EIU usia awitan anak; Proporsi respons terapi < 6 bulan setelah pengobatan valproat lebih tinggi pada EIU usia awitan anak ≤ 11 dengan genotip mutan polimorfisme rs585344 gen *ME2* dibandingkan dengan genotip bukan mutan polimorfisme rs585344 dan rs642698 gen *ME2* Proporsi respons terapi < 6 bulan setelah pengobatan valproat lebih tinggi pada EIU usia awitan anak ≤ 11 dengan genotip mutan polimorfisme rs642698 gen *ME2* dibandingkan dengan genotip bukan mutan polimorfisme rs585344 dan rs642698 gen *ME2*

DAFTAR PUSTAKA

Annegers, J. 1994. Epidemiology and genetics of epilepsy. *Neurol Clin*,12(1):15-29.

Berkovic, S.F.H.R., Hay, D.A. & Hopper, J.L.1998. Epilepsies in twins: genetics of the major epilepsy syndromes. *Ann Neurol*, 43(4): 435-45.

Durner, M., Keddache, M.A., Tomasini, L., Shinnar, S., Resor, S.R. & Cohen, J. 2001. Genome scan of idiopathic generalized epilepsy: evidence for major susceptibility gene and modifying genes influencing the seizure type. *Ann Neurol*, 49(3): 328-35.

Engel, J.A. 2001. proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE task force on classification and terminology. *Epilepsia*, 42: 796-803.

Greenberg, D.A., Durner, M. & Delgado-Escueta, A.V. 1992. Evidence for multiple gene loci in the expression of the common generalized epilepsies. *Neurology*, 42(4 Suppl 5): 56-62.

Greenberg, D.A, Cayanis, E., Strug, L. & Marathe, S., Durner, M. & Pal, D.K. 2005. Malic enzyme 2 may underlie susceptibility to adolescent-onset idiopathic generalized epilepsy. *Am J Hum Genet*, 76(1): 139-46.

International League Against Epilepsy. 1989. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia*, 30: 389-99.

Koutroumanidis, M. & Smith, S. 2005. Use and abuse of EEG in the diagnosis of idiopathic generalized epilepsies. *Epilepsia*, 46(9): 96-107.

Lenzen, K.P., Heils, A., Lorenz, S., Hempelmann, A. & Sander, T. 2005. Association analysis of malic enzyme 2 gene polymorphisms with idiopathic generalized epilepsy. *Epilepsia*, 46(10): 1637-41.

McKenna, M., Gruetter, R., Sonnewald, U., Waagepetersen, H. & Schousboe, A. 2006. Energy Metabolism of the Brain: Brain Neurochemistry Molecular, Cellular and Medical Aspects, 531-2.

Noebels, J.L. 2003. The biology of epilepsy genes. *Annu Rev Neurosci*, 26: 599-625.

Sander, J. 2003. The epidemiology of epilepsy revisited. *Curr Opin Neurol*, 2(16):165-70.

Tan, N.C., Mulley, J.C. & Berkovic, S.F. 2004 Genetic association studies in epilepsy: "the truth is out there". *Epilepsia*, 45(11): 1429-42.

Wealer, P.E., Blom, B.H., Skeidsvoll H. & Mykletun A. P. 2000. Prevalence, classification, and severity of epilepsy in children in western Norway. *Epilepsia*, 41(7): 802-10.

Wheless, J.W. & Kim, H.L. 2002. Adolescent seizures and epilepsy syndromes. *Epilepsia*, 43 Suppl 3:33-52.

WHO. 2001. WHO epilepsy: epidemiology, etiology, and prognosis.

Zarrelli, M.M., Beghi, E. & Walter, A. 1999. Incidence of epileptic syndromes in Rochester, Minnesota 1980-1984. *Epilepsia*, 40(12): 1708-14.