

## Polimorfisme Gen Penyandi Reseptor Adrenergik $\beta_3$ pada Remaja dengan Sindroma Metabolik

### *Polymorphism of Adrenergic $\beta_3$ Receptor Signaling Gene in Adolescents with Metabolic Syndrome*

Sri Andarini<sup>1</sup>, Djanggan Sargowo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Ilmu Kesehatan Masyarakat-Kedokteran Pencegahan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijay Malang

<sup>2</sup>Laboratorium Ilmu Penyakit Dalam Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Saiful Anwar Malang

#### ABSTRAK

Sindroma metabolik telah menjadi permasalahan dunia termasuk di Indonesia dengan obesitas sebagai salah satu komponennya. Obesitas pada remaja dapat mengarah pada obesitas saat dewasa, yang dapat disebabkan faktor genetik dan lingkungan. Faktor genetic yang mempengaruhi obesitas adalah gen penyandi reseptor adrenergic yang berperan dalam thermogenesis. Penelitian ini dilakukan untuk menjelaskan peran gen penyandi reseptor adrenergik  $\beta_3$  pada remaja dengan sindroma metabolik. Penelitian dilakukan dengan menggunakan desain *case control*. Kriteria sindroma metabolik menggunakan batasan dari IDF (*International Diabetes Federation*). Hasil penelitian mengidentifikasi adanya polimorfisme pada gen penyandi reseptor adrenergik  $\beta_3$  pada 13,3% remaja dengan sindroma metabolik. Polimorfisme yang terjadi adalah pada rantai basa 212 missense timin menjadi adenin, guanin dan adenin pada rantai basa 213 serta delesi rantai basa 244 pada 2 remaja dengan SM dan rantai basa 354 pada satu remaja dengan SM. Didapatkan hubungan antara adanya polimorfisme dan terjadinya sindroma metabolik. Dapat disimpulkan bahwa terjadinya polimorfisme pada gen penyandi reseptor adrenergik  $\beta_3$  berhubungan dengan terjadinya sindroma metabolik pada remaja.

**Kata Kunci:** Gen penyandi reseptor adrenergic  $\beta_3$ , polimorfisme, remaja, sindroma metabolik

#### ABSTRACT

*Metabolic syndrome has become worldwide health problem including in Indonesia, and obesity as one of its components. Obesity in adolescents tends to continue to be obesity in adulthood and is caused by both genetic and environment factors. Genetic factor causing obesity is adrenergic receptor signaling gene which plays a role in the thermogenesis. This study aims to define the role of adrenergic  $\beta_3$  receptor signaling gene in adolescence with metabolic syndrome. This study was conducted using case-control design. The criteria of metabolic syndrome used the definition from IDF (International Diabetes Federation). This study identifies the presence of polymorphism on adrenergic  $\beta_3$  receptor signaling gene as much as 13,3% adolescents with metabolic syndrome. Polymorphism that occur are on the chain base 212 missense between thymine and adenine, guanine and adenine on chain base 213 and deletion of chain base 244 in 2 adolescents with metabolic syndrome and of chain base 354 in 1 adolescent with metabolic syndrome. A relationship is obtained between polymorphism and the presence of metabolic syndrome. It can be concluded that the occurrence of polymorphisms in adrenergic  $\beta_3$  receptor signaling gene is associated with metabolic syndrome in adolescents.*

**Keyword:** Adrenergic  $\beta_3$ , adolescents, metabolic syndrome, polymorphism, receptor signaling gene

## PENDAHULUAN

Penyebab obesitas adalah faktor genetik dan lingkungan. Pengaruh gen terhadap obesitas sangat kompleks dan melibatkan banyak gen antara lain adalah gen penyandi reseptor adrenergik  $\beta_3$ . Pengukuran satu varian kandidat gen akan bermanfaat dalam memberikan informasi penting karena akan bisa mempengaruhi sistem tubuh. Salah satu gen yang telah diidentifikasi adalah varian Trp64Arg dari gen penyandi reseptor adrenergik  $\beta_3$  yang berhubungan dengan fenotip obesitas. Mekanisme kerja gen penyandi reseptor adrenergik  $\beta_3$  adalah dalam proses termogenesis yang terinduksi diet dan lipolisis. Terjadinya polimorfisme akan mempengaruhi termogenesis dan lipolisis dan dapat berkembang menjadi obesitas, akan tetapi mekanisme terjadinya lipolisis akibat polimorfisme belum dapat dijelaskan (1).

Sindroma metabolik (SM) adalah suatu istilah untuk kelompok faktor resiko penyakit jantung dan tipe-2 diabetes mellitus (DM). Faktor resiko tersebut terdiri dari dislipidemia atherogenik, naiknya tekanan darah, naiknya plasma glukosa, keadaan protrombotik, dan keadaan peradangan. Selama ini SM hanya dibicarakan pada orang dewasa, sangat jarang pada remaja. Orang dengan SM maka didalam tubuhnya terjadi proses inflamasi, dislipidemia dan aterotrombosis. Hal ini memungkinkan terjadi penyakit kardiovaskuler bahkan terjadi stroke. Apabila SM terjadi pada usia remaja, maka penyakit stroke akan terjadi pada usia dini dengan segala akibatnya termasuk hilangnya produktifitas dan menurunnya kualitas hidup pada usia dini. Laporan dari *National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III* (NCEP-ATP III) menunjukkan peningkatan prevalensi SM pada remaja dari periode 1988-1992 ke periode 1999-2000, yaitu dari 4,2% menjadi 6,4%. Prevalensi SM pada laki-laki ternyata lebih besar dibanding perempuan, yaitu 9,1% dibanding 3,7% (2). Prevalensi SM pada remaja etnis Cina Indonesia yang obesitas di Jakarta Utara dan Selatan sebesar 19,14% untuk laki-laki dan 10,63% untuk perempuan (Sibarani RP, 2006). Penelitian SM pada orang dewasa pernah dilakukan di Surabaya dengan menggunakan kriteria ATP III didapatkan prevalensi sebesar 32% (3).

Penyebab obesitas sebagai komponen SM, sangatlah kompleks dan multifaktor meliputi faktor genetik dan lingkungan. Bagaimana dan mengapa terjadi obesitas belum lengkap dipahami, termasuk faktor sosial-ekonomi, kebudayaan, fisik, metabolik dan genetik (4). Masa remaja merupakan salah satu periode tumbuh kembang yang penting dan menentukan pada periode perkembangan berikutnya. Remaja yang mengalami obesitas, kelak pada masa dewasa cenderung obesitas. Hal ini telah dibuktikan bahwa insiden obesitas pada periode transisi antara remaja dan dewasa muda dalam kurun waktu lima tahun meningkat, yaitu dari 10,9% menjadi 22,1% dan 4,3% di antaranya mempunyai IMT  $\geq$  40. Insiden tertinggi terjadi pada non Hispanik yang berkulit hitam (5). Pada studi retrospektif dilaporkan, bahwa 50% perempuan dewasa dengan obesitas, mempunyai riwayat obesitas menjelang pubertas (6). Prevalensi remaja obesitas ternyata juga meningkat pada dekade terakhir. Menurut *National Health and Nutrition Examination Study* (NHANES) antara periode 1988-1994 dan 1999-2000 terjadi peningkatan remaja obesitas sebesar 11%. Selain itu remaja yang mempunyai IMT persentil  $\geq$  95 sekitar 15,5 % (7). Penelitian ini bertujuan

untuk mengidentifikasi adanya polimorfisme dan perannya dalam SM pada remaja.

## METODE

Metoda penelitian ini merupakan penelitian observasional, dengan pendekatan *case control study* yang mempertimbangan prevalensi remaja SM kecil, waktu terjadinya tidak jelas, mempunyai masa laten yang panjang untuk mengidentifikasi beberapa faktor resiko secara bersamaan. Penelitian ini dilengkapi dengan kode etik yang ditandatangani oleh Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Populasi pada penelitian ini adalah semua remaja di SMP, SMA di kota Malang yang sesuai dengan kriteria penelitian. Populasi target adalah remaja SM di kota Malang. Sampel kelompok kasus remaja SM yang di tentukan berdasarkan kriteria IDF yang disesuaikan untuk ukuran remaja, yaitu kriteria lingkar pinggang  $>80$  cm untuk perempuan dan  $>90$ cm untuk laki-laki (8). kadar trigliserida perempuan  $<126$ mg/dl, laki-laki  $<143$ mg/dl dan kadar HDL  $>74$ mg/dl untuk perempuan,  $>63$ mg/dl untuk laki-laki (9). Kriteria sampel dalam penelitian ini adalah: remaja dengan umur 13-19 tahun pada saat dilakukan penelitian, dan bertempat tinggal di wilayah Malang Raya, remaja bukan penderita asma bronkiale (pengobatan dengan kortikosteroid), *nephrotic syndrom*, *cushing syndrom* pada saat dilakukan penelitian, tidak merokok, bersedia sebagai responden untuk diambil sampel darahnya dengan menandatangani persetujuan (*informed consent*) dari orang tua. Dari 23 sampel SM yang berhasil dilakukan *sequencing* sejumlah 21 sampel SM, dan dari 10 sampel tidak SM yang berhasil dilakukan *sequencing* sejumlah 9 sampel. Kriteria kelompok kontrol disesuaikan dengan kelompok kasus dalam hal tempat sekolah.

Metode yang digunakan untuk mengidentifikasi gen penyandi reseptor adrenergik  $\beta_3$  adalah dengan metode PCR. Analisis gen penyandi reseptor adrenergik  $\beta_3$  dilakukan secara bertahap. Tahap pertama dilakukan isolasi DNA dari sampel darah, kemudian pada gen penyandi reseptor adrenergik  $\beta_3$  dilakukan amplifikasi menggunakan PCR disekitar polimorfisme dengan primer: *upstream primer* 5'-TTCCGTGGGAGGCGGCCCTAG-3' dan *reverse primer* 5'-TTTCGATGCTGGCGGTCACACAC-3'.

Kondisi PCR yang digunakan adalah sebagai berikut: siklus 95°C selama 4 menit, 94°C selama 1 menit, 50°C selama 1 menit, dan 72°C selama 2 menit, sebanyak 35 siklus, selanjutnya dilakukan *final extention* dengan menggunakan suhu 72°C selama 5 menit dan terakhir suhu diturunkan sampai 4°C selama 5'. Visualisasi DNA hasil PCR menggunakan Agarose 2% dan dijalankan dalam tegangan 80 volt selama 90 menit. Tahap kedua dilakukan *sequencing* hasil PCR dengan terlebih dahulu dilakukan purifikasi, selanjutnya hasil *sequencing* dianalisa menggunakan program *Basic Local Alignment Search Tools* (BLAST). Selanjutnya hasil *sequencing* disejajarkan untuk dianalisa keberadaan mutasinya dengan program SeqMan DNASTAR.

## HASIL

### Deskripsi Karakteristik Responden

Responden pada penelitian ini berjumlah 150 remaja dengan pembagian 73 kelompok SM, dan 77 kelompok tidak SM. Dari 73 remaja SM didapatkan 53 remaja SMA

dan 20 remaja SMP. Dari 77 yang termasuk kelompok tidak SM, 55 adalah remaja SMA dan 22 remaja SMP. Pengambilan kelompok tidak SM dilakukan pada sekolah yang sama, akan tetapi tidak dilakukan *matching*. Secara rinci deskripsi responden disajikan pada Tabel 1.

Pada tabel 1 menunjukkan bahwa umur 15 tahun sampai dengan 19 tahun lebih banyak dari pada umur 13 tahun sampai 14 tahun, tetapi setelah dilakukan uji  $\chi^2$  ternyata tidak berbeda bermakna antara kelompok kasus dan kelompok kontrol. Demikian juga dengan jenis kelamin, jenis kelamin laki-laki ternyata lebih banyak pada kelompok kasus akan tetapi pada kelompok kontrol lebih banyak yang perempuan dan setelah dilakukan uji  $\chi^2$  ternyata menunjukkan hasil yang tidak bermakna ( $p > 0,05$ ).

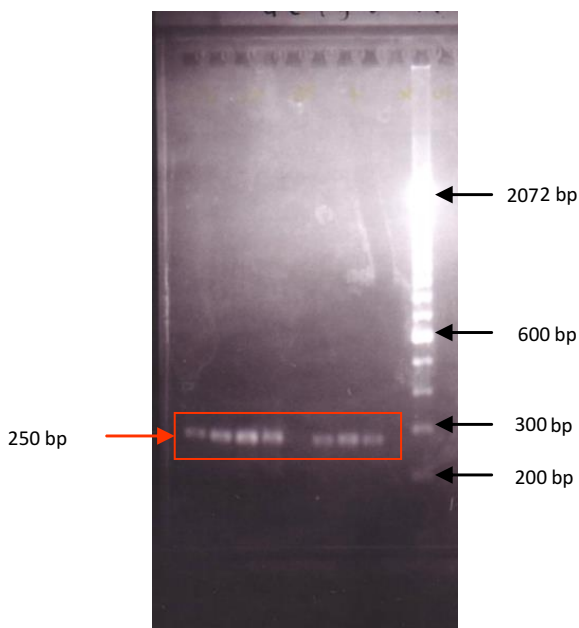
**Tabel 1. Distribusi frekuensi karakteristik responden**

No	Karakteristik	Kelompok SM	Kelompok tidak SM	p
1.	Umur:			
	13 – 14 tahun	19 (26,03%)	22 (28,57%)	0,261
	15 – 19 tahun	54 (73,97%)	55 (71,43%)	
2.	Jenis kelamin:			
	Laki-laki	33 (45,21%)	28 (36,36%)	0,261
	Perempuan	40 (54,79%)	49 (63,64%)	
3.	Pendidikan:			
	SMP	20 (27,40%)	22 (28,57%)	0,551
	SMA	53 (72,60%)	55 (71,43%)	
	T o t a l	73 (100%)	77 (100%)	

Keterangan: SM= sindroma metabolik

**Genotyping Gen Penyandi Reseptor Adrenergik  $\beta_3$**

Amplifikasi gen penyandi reseptor adrenergik menggunakan PCR memperlihatkan adanya pita tunggal berukuran sekitar 250 pasang basa (Gambar 2). Dari hasil PCR dapat diidentifikasi gen lebih kurang pada *base pair* ke 250.



**Gambar 1. Hasil amplifikasi daerah yang mengapit Trp64Arg dari gen penyandi reseptor adrenergik  $\beta_3$ .**

Tabel 2 menunjukkan hasil sequencing. Dari 21 sampel SM dan 9 tidak SM yang dianalisa, ditemukan 4 sampel dari kelompok SM yang mengalami polimorfisme (13,3%), yang menyebabkan perubahan asam amino atau terbentuknya kodon stop.

**Tabel 2. Hasil sequencing daerah yang mengapit polimorfisme gen penyandi reseptor adrenergik  $\beta_3$**

Nama sampel	SM1-A3	SM2-A3 dan SM17-P5	S – P5 -33
Nama mutasi	ADIA1 ADIA2	ADIA3	ADIA4
Perubahan nukleotida (mutasi)	T212A dan G213A	Δ244	Δ364
Perubahan asam amino	M71K	85 stop kodon	123 stop kodon

**Keterangan:** ADIA1= missense Timin menjadi Adenin pada basa ke 212, ADIA2 = missense Guanin menjadi Adenin pada basa ke 213, ADIA3= delesi basa Guanin pada basa ke 244, ADIA4= delesi basa Adenin pada basa ke 364, M71K= Methionin menjadi Lisin pada kodon ke 71

**Hubungan Adanya Polimorfisme Gen Penyandi Reseptor Adrenergik  $\beta_3$  dengan SM pada Remaja**

Hubungan adanya polimorfisme gen penyandi reseptor adrenergik  $\beta_3$  dengan SM dianalisis dengan menggunakan *odds ratio*, yaitu berapa seringnya terdapat pajanan pada kelompok SM dibandingkan dengan pada kelompok tidak SM (Tabel 3). Dari hasil analisis menunjukkan bahwa remaja yang mengalami polimorfisme gen penyandi reseptor adrenergik  $\beta_3$  mempunyai kemungkinan untuk terkena SM 4,4 kali lebih besar dibandingkan dengan kelompok yang tidak mengalami polimorfisme.

**Tabel 3. Hubungan adanya polimorfisme gen penyandi reseptor adrenergik  $\beta_3$  dengan sindroma metabolik pada remaja**

		Sindroma Metabolik	
		(+)	(-)
Polimorfisme gen penyandi reseptor adrenergik $\beta_3$	(+)	4	0,50
	(-)	17	9
		OR = 4,4	

Keterangan: OR= odds ratio

**DISKUSI**

Pengaruh gen terhadap obesitas sebagai komponen SM, sangat kompleks dan melibatkan beberapa gen antara lain gen penyandi reseptor adrenergik  $\beta_3$ . Oleh karena itu pengukuran satu varian kandidat gen pun akan bermanfaat dalam memberikan informasi penting karena akan bisa mempengaruhi keseluruhan sistem SM. Salah satu gen yang telah diidentifikasi adalah varian Trp64Arg dari gen penyandi reseptor adrenergik  $\beta_3$  yang berhubungan dengan fenotip obesitas. Peran penting dari gen penyandi reseptor adrenergik  $\beta_3$  adalah mekanisme kerjanya dalam proses termogenesis yang terinduksi diet dan lipolisis. Terjadinya polimorfisme akan mempengaruhi termogenesis dan lipolisis dan dapat berkembang menjadi obesitas, akan tetapi mekanisme terjadinya lipolisis akibat polimorfisme belum dapat dijelaskan(1).

Hasil sequencing DNA pada penelitian ini menunjukkan bahwa ada perbedaan basa nukleotida pada 4 sampel yang mengalami sindroma metabolik dari 30 sampel yang dilakukan sequencing (13,3%). Perbedaan tersebut berupa: 1.) perubahan basa Timin menjadi Adenine pada basa ke 212 dan perubahan basa Guanine menjadi Adenine pada basa ke 213 sehingga terjadi perubahan kodon ke 71 yang menyebabkan metionin/M menjadi lisin/K pada satu remaja SM, 2.) delesi basa Guanine pada urutan basa ke 244 menyebabkan terjadinya kodon stop yang berakibat pada terminasi dini mulai pada kodon ke-85 untuk 2 remaja SM, 3.) delesi basa Adenine pada urutan basa ke 364 sehingga terjadi perubahan asam amino yaitu threonin menjadi proline dan alanine menjadi proline pada kodon ke 123 untuk 1 remaja SM. Semua perbedaan tersebut dapat dikatakan sebagai polimorfisme. Semua temuan ini berbeda dengan temuan yang menyatakan adanya polimorfisme gen penyandi reseptor adrenergik  $\beta_3$  pada kodon 64 (Trp64Arg) juga melaporkan ada hubungan antara polimorfisme pada kodon 64 (Trp64Arg) dengan peningkatan berat badan dan IMT pada laki-laki tidak pada wanita, namun hubungan tersebut tidak berlaku untuk trigliserida, kolesterol, gula darah dan tekanan darah (10).

Perubahan basa Timin menjadi Adenine pada basa ke 212 dan basa Guanine menjadi Adenine pada basa ke 213, mengakibatkan terjadinya perubahan kodon ke 71. Keadaan ini dinamakan mutasi *missense*, yang termasuk dalam katagori mutasi titik (*point mutation*), yaitu hanya satu basa pada DNA yang mengalami perubahan. Adanya mutasi ini memungkinkan terjadinya gangguan pada signal transduksi mulai dari cAMP sampai ke mitokondria, yang selanjutnya akan menyebabkan gangguan pada jalannya regulasi energi kedalam sel, yaitu terganggunya mekanisme perjalanan energi khususnya *energy expenditure*. Mutasi ini berdampak terjadinya obesitas.

Delesi basa Guanine pada urutan basa ke 244 menyebabkan perubahan asam amino sehingga terjadi terminasi dini pada kodon ke-85, dinamakan mutasi *frameshift*, karena jumlah nukleotida yang didelesikan bukan kelipatan tiga, dan kerangka bacanya bergeser sehingga dibaca dalam kodon yang tidak tepat. Dengan demikian protein yang disintesis juga akan berbeda dari protein aslinya. Delesi ini kemungkinan akan mengakibatkan terjadinya gangguan pada signal transduksi transfer energi menjadi *energy expenditure*, yang menyebabkan terjadinya obesitas.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Umekawa T, Toshihide Y, Naoki S, Akinori K, Motoharu K, and Hideo H. *Trp64Arg Mutation of  $\beta_3$ -Adrenoceptor Gene Deteriorates Lipolysis Induced by  $\beta_3$ -Adrenoceptor Agonist in Human Omental Adipocytes*. Diabetes. 1999; 48(1): 117–120.
2. Duncan GE, Li SM, and Zhou XH. *Prevalence and Trends of a Metabolic Syndrome Phenotype Among U.S. Adolescents 1999-2000*. Diabetes Care. 2004; 27(10): 2438-2443.
3. Tjokropawiro A. *The Trend in Emerging Lifestyle-related Diseases in Indonesia (From Obesity-MetS and CMR- to the CMDs)*. Kobe Association for the Study of Food and Health. Kasfah Memorial Meeting. Kobe, 5 July 2008

Mekanisme molekuler hubungan polimorfisme dengan SM masih perlu dikaji lebih dalam. Adanya polimorfisme akan mengganggu mekanisme regulasi energi melalui reseptor adrenergik  $\beta_3$ , yaitu terhambatnya termogenesis dan lipolisis sehingga sangat mungkin berhubungan dengan terjadinya sindroma metabolik pada remaja. Untuk menjelaskan hal tersebut perlu mengetahui ada tidaknya kelainan fungsi metabolisme energi, melalui protein aktifnya. Untuk itu diperlukan serangkaian eksperimen tambahan untuk mengkarakterisasi produk polimorfisme yaitu protein dengan varian baru dengan pengujian biokimia dan fisiologi. Hal ini bisa membantu mengetahui pada tahapan mana pada metabolisme SM protein dengan varian baru tersebut diatas berperan.

Hubungan adanya polimorfisme gen penyandi reseptor adrenergik  $\beta_3$  dengan SM telah dianalisis menggunakan odds rasio, didapatkan hasil bahwa remaja yang mengalami polimorfisme gen penyandi reseptor adrenergik  $\beta_3$  mempunyai kemungkinan untuk terkena SM 4,4 kali lebih besar dibandingkan dengan kelompok yang tidak mengalami polimorfisme. Artinya bahwa polimorfisme berpengaruh terhadap terjadinya SM. Meskipun demikian karena sedikitnya sampel, maka temuan ini perlu pengkajian lebih dalam dengan menggunakan jumlah sampel besar.

Suatu hal menarik dari studi ini, bahwa ada perbedaan signifikan antara kelompok remaja yang mengalami polimorfisme gen penyandi reseptor adrenergik  $\beta_3$ , dengan kelompok yang tidak mengalami polimorfisme dalam kaitannya dengan asupan makan karbohidrat. pada kelompok yg mengalami polimorfisme asupan karbohidratnya lebih banyak dari pada kelompok yang tidak mengalami polimorfisme. Temuan ini menjadi dasar pemikiran kedepan tentang konsep teori *nutrigenetics* atau *nutrigenomics*. Teori *nutrigenetics* memaparkan bahwa kelainan genetik dapat mengakibatkan kelainan pada pola makan, sedang *nutrigenomics* menjelaskan bahwa makanan tertentu dapat menyebabkan terjadinya perubahan genetik pada seseorang. Hasil penelitian ini memang belum dapat menjelaskan teori *nutrigenetics* dan *nutrigenomics* tentang urutan kejadian, antara kejadian polimorfisme dengan lama asupan karbohidrat namun paling tidak sudah bisa memberikan sinyal awal bahwa teori *nutrigenetics* mungkin berlaku pada kasus ini. Penelitian ini merupakan penelitian yang pertama dilaporkan di Indonesia, yaitu gen penyandi reseptor adrenergik  $\beta_3$  khususnya pada remaja SM.

4. Ryan D. *Risk and Benefits of Weight Loss: Challenges to Obesity Research*. European Heart Journal. 7(Suppl): L27-L31.
5. Larsen PG, Adair LS, Nelson MC, and Popkin BM. *Five-Year Obesity Incidence in the Transition Period Between Adolescence and Adulthood: The National Longitudinal Study of Adolescent Health*. American Journal of Clinical Nutrition. 2004; 80(3): 569-575.
6. Field AE, Cook NR, and Gillman MW. *Weight Status in Childhood as a Predictor of becoming Over Weight or Hypertensive in Early Adulthood*. Obesity Research. 2005; 13(1): 163-169.
7. Ogden CI, Flegal KM, Carroll MD, and Johnson CI. *Prevalence and Trends in Overweight among US Children and Adolescents, 1999-2000*. The Journal of

- the American Medical Association. 2002; 288(14): 1728-1732
8. Lee ZSK, Critchley JAJH, Ko GT, *et al.* *Obesity and Cardiovascular Risk Factors in Hong Kong Chinese.* *Obesity Reviews.* 2002;(3)3: 173-182
  9. Tershakovec AM and Daniel JR. *Disorders of Lipoprotein Metabolism and Transport.* In: Behrman RE, Kliegman RM, and Jenson HB (Eds). *Textbook of Pediatrics* 17th edition. Tokyo: WB Saunders; 2003; p. 448.
  10. Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, *et al.* *The Human Obesity Gene Map: The 2005 Update.* *Obesity (Silver Spring).* 2006;14(4):529-644