

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Hipospadia merupakan salah satu kelainan kongenital pada laki-laki yang sering dijumpai. Angka kejadian hipospadia di Italia dilaporkan 3 - 4 per 1000 kelahiran hidup (Ghirri *et al.*, 2009). Kasus ini dilaporkan sekitar 0,3-1% kelahiran hidup di Amerika (Carmichael *et al.*, 2003; Porter *et al.*, 2005; Fisch *et al.*, 2009). Namun kejadian hipospadia lebih tinggi ditemukan di *Child Health Care Center* Rotterdam tahun 2000 yaitu sebanyak 53 orang dari 7.292 bayi laki-laki (0,73%) (Pierik *et al.*, 2002). Pasien hipospadia di RSUP Cipto Mangunkusumo Jakarta dari tahun 2002 - 2008 ditemukan sebanyak 139 orang (Fariz dkk., 2010). Penelitian dari Januari 2011 - September 2012 di RS Sardjito Yogyakarta didapatkan 60 pasien hipospadia (Sastrasupena., 2013). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Pande dkk ditemukan 65 kasus hipospadia dari tahun 2011 - 2014 (Pande dkk., 2015), sedangkan Bayu dkk mendapatkan jumlah penderita hipospadia sebanyak 15 kasus dalam periode tahun 2009 - 2011 (Bayu dkk., 2014). Data dari rekam medis SMF Urologi RSUP Dr. M. Djamil Padang dalam 5 tahun terakhir (2010 - 2014) telah dilakukan 95 kali operasi, dengan rata-rata 19 orang pertahun.

Sampai sekarang belum diketahui etiologi pasti dari hipospadia. Para peneliti masih menduga peranan faktor genetik, endrokrin, dan faktor lingkungan sebagai penyebabnya (Baskin *et al.*, 2001; van der Zanden *et al.*, 2012; Snodgrass, 2012). Van der Zanden *et al.* (2012), mereview beberapa artikel hasil penelitian

dan menyimpulkan bahwa adanya kaitan mutasi dan polimorfisme gen dengan kejadian hipospadia. Mutasi gen yang telah ditemukan antara lain, gen *Wilms tumor* (WT1), *splicing factor 1* (SF1), *bone morphogenetic protein 4* (BMP4), BMP7, *activating transcription factor 3* (ATF3), *steroid 5 alpha reductase type 2* (SRD5A2), *androgen receptor* (AR), dan *HomeoboxA 4* (HOXA4) (van der Zanden *et al.*, 2012).

Polimorfisme beberapa gen juga telah diteliti, seperti gen *fibroblast growth factor 8* (FGF8), *fibroblast growth factor receptor 2* (FGFR2), AR, ATF3, SRD5A2, *estrogen receptor1* (ESR1), ESR2, *mastermind-like domain containing 1* (MAMLD1) dan *diacylglycerol kinase kappa* (DGKK) (van der Zanden *et al.*, 2012). Sementara itu, Ban *et al.* melakukan penelitian tentang pengaruh polimorfisme gen ESR1 dan ESR2 yang mempengaruhi aktivitas estrogen pada penderita hipospadia (Ban *et al.*, 2008). Belez-Meireles *et al.* meneliti tentang FGFR2, FGFR8, FGFR10 dan BMP7 sebagai gen penyebab hipospadia (Belez-Meireles *et al.*, 2007)

Namun masih terdapat kontroversi para ahli tentang kaitan mutasi dan polimorfisme gen ini dengan kejadian hipospadia. Kemudian berkembang teori seperti kontaminasi lingkungan estrogenik, tekanan dari anggota badan janin pada saat perkembangan penis, kurangnya *human chorionic gonadotropin* (HCG) dalam plasenta dan kelainan dalam metabolisme androgen sebagai manifestasi lokal endokrinopati sistemik (Snodgrass., 2012).

Banyak penelitian-penelitian mengenai marker genetik untuk memprediksi penyebab dari kasus ini dengan menggunakan analisis *microarray*. Mereka menggunakan preputium pasien hipospadia dibandingkan dengan preputium

pasien-pasien yang disunat secara elektif. Beberapa gen diduga berhubungan erat dengan angka kejadian hipospadia berdasarkan penilaian ekspresi protein maupun ekspresi mRNA. Gen tersebut termasuk ATF3, *zinc finger protein 36* (ZFP36), *connective tissue growth factor* (CTGF) dan *cysteine-rich angiogenic inducer 61* (CYR61). Teori yang dianut saat ini untuk menjelaskan etiologi hipospadia adalah faktor genetik yang digabungkan dengan paparan dari lingkungan luar selama pembentukan uretra dalam kandungan (Baskin., 2008; Wang *et al.*, 2012).

Paparan dari faktor lingkungan semasa janin dapat meningkatkan risiko terjadinya hipospadia yaitu paparan pestisida, ibu dengan konsumsi alkohol, rokok, obat-obatan, vegetarian, penggunaan kontrasepsi hormon (Bay *et al.*, 2006; Rocheleau., 2009). Palmer *et al.* (2005) melaporkan bahwa ibu yang menggunakan *diethylstilbestrol* akan meningkatkan risiko melahirkan anak dengan hipospadia. Penelitian menggunakan hewan coba untuk membuktikan pengaruh hormon, obat dan beberapa zat kimia telah banyak dilakukan. Pestisida telah dibuktikan pada hewan coba berpotensi merusak hormon endokrin yang akan meningkatkan risiko kejadian hipospadia (Steinhardt., 2004). Faktor usia ibu saat hamil dan indeks massa tubuh ibu juga dapat mempengaruhi peningkatan risiko melahirkan anak hipospadia (Carmichael *et al.*, 2003).

*Activating transcription factor 3* adalah suatu gen yang bertanggung jawab mengekspresikan estrogen selama pembentukan genitalia, dimana gen ini dapat berimplikasi sebagai etiologi dari hipospadia. ATF3 merupakan anggota *ATF/cAMP responsive element binding (CREB) family*. Gen ini termasuk kelompok *estrogen related gene*. Lokasi pada kromosom 1q32.3 dengan panjang basa 55.444 bp. Gen ini bisa didapatkan di dalam nukleus, sitoskeleton, sitosol,

retikuloendoplasma, dan mitokondria (*Genecards*, 2015). Analisis genomik dari jaringan preputium penderita hipospadia mengindikasikan bahwa ATF3 mempunyai peranan yang signifikan dalam terjadinya kelainan tersebut (Liu *et al.*, 2005).

Peran lain ATF3 ditemukan dalam penyembuhan luka, homeostasis, adhesi sel atau apoptosis dan sel normal, dimana diekspresikan pada keadaan sel yang statis. Gen ATF3 juga terlihat sebagai gen estrogen yang responsif dan menjadi etiologi hipospadia yang mungkin berhubungan dengan paparan estrogen atau anti androgen selama kehamilan (Liu *et al.*, 2005). Kelebihan ekspresi dari protein ATF3 menekan pertumbuhan sel dan memperlambat transisi sel dari fase G1 ke fase S. Bukti ini menunjukkan bahwa protein ATF3 mungkin memainkan peran yang negatif dalam progresivitas sel. Hasil pemeriksaan *microarray* mengindikasikan bahwa ATF3 merupakan salah satu gen yang mengatur terjadinya jaringan hipospadia (Wang *et al.*, 2012).

Polimorfisme adalah suatu perbedaan diantara sekuen DNA normal antar individu. Variasi dan ekspresi gen dipengaruhi faktor ras, etnik, dan lingkungan sekitarnya (Risch and Merikangas, 1996). Salah satu polimorfisme ATF3 adalah perubahan basa *cytosine* (C) menjadi *thymine* (T) pada posisi basa ke 817. Adanya polimorfisme ditentukan berdasarkan pemeriksaan *Polymerase Chain Reaction Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP) pada DNA. Gen ATF3 ditemukan pada kulit preputium pasien hipospadia dan menekan siklus sel yang mempengaruhi pertumbuhan sel uretra (Kojima *et al.*, 2010). Polimorfisme ATF3 telah ditemukan sekitar 10% pasien dengan hipospadia di California dan dilaporkan juga adanya ekspresi abnormal ATF3 pada fetus dengan hipospadia.



Implikasi langsung dari ATF3 untuk terjadinya hipospadia masih diperlukan penelitian yang lebih lanjut (Kalfa *et al.*, 2008).

Polimorfisme gen *androgen receptor* (AR) pada rs139767835, rs78686797, rs62636528, rs62636529, rs145326748 berkaitan dengan kejadian hipospadia (Borhani *et al.*, 2014). Gen ini termasuk kelompok *androgen related gene*. Lokasi gen AR pada kromosom Xq11-12 dengan panjang basa 183 kilo bases, terdiri dari 8 ekson yang dipisahkan oleh intron yang panjang. Protein AR sebanyak 919 asam amino dengan berat molekul 110 kDa (Cunningham *et al.*, 2012; Chan and Dehm., 2014). Peningkatan ekspresi gen ini berkaitan dengan polimorfisme pada daerah promotor gen yang berpotensi untuk terjadinya hipospadia. Lokasi polimorfisme juga terjadi pada -480 C/T yaitu perubahan basa *cytosine* (C) menjadi *thymine* (T) (Borhani *et al.*, 2014). Beberapa peneliti menemukan bahwa polimorfisme kedua gen ini berkaitan dengan penggunaan pestisida yang menyebabkan kerentanan kejadian hipospadia.

Polimorfisme dapat berbeda pada beberapa ras dan suku. Polimorfisme yang di temukan pada ras Caucasia berbeda dengan negara Asia, begitu juga yang dilaporkan bahwa polimorfisme ditemukan berbeda di beberapa suku yang ada di Indonesia. Kemungkinan adanya perbedaan ini, maka sering dilaporkan bahwa polimorfisme berbeda pada masing-masing tempat. Untuk itu masih banyak peluang untuk melakukan penelitian tentang polimorfisme gen dengan tempat yang berbeda, sehingga kita dapat menemukan suatu prediksi bahwa dengan adanya polimorfisme dapat memprediksi seseorang berisiko atau rentan terhadap penyakit/kelainan serta respon terhadap pengobatan (Risch and Merikangas., 1996; Drysdale *et al.*, 2000).

Berdasarkan latar belakang di atas, diasumsikan bahwa polimorfisme gen ATF3 dan AR di daerah promotor gen berperan terhadap peningkatan ekspresi gen tersebut. Peningkatan ekspresi kedua gen ini dianggap sebagai penyebab gangguan muara uretra pada hipospadia, karena penekanan pertumbuhan sel uretra. Hal ini diduga sebagai faktor penyebab terjadinya hipospadia. Oleh karena semakin meningkatnya keresahan orang tua yang memiliki anak dengan hipospadia, belum adanya penelitian tentang polimorfisme dan ekspresi gen ATF3 dan AR yang dihubungkan dengan kejadian hipospadia di Indonesia dan masih sedikitnya di dunia, maka peneliti tertarik melakukan penelitian tentang hubungan polimorfisme promotor dan ekspresi gen ATF3 dan AR dengan kejadian hipospadia.

## 1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang, dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut:

1. Apakah terdapat perbedaan distribusi polimorfisme promotor gen ATF3 pada penderita hipospadia dibandingkan dengan kontrol?
2. Apakah terdapat perbedaan distribusi polimorfisme promotor gen AR pada penderita hipospadia dibandingkan dengan kontrol?
3. Apakah terdapat hubungan ekspresi gen ATF3 dengan kejadian hipospadia?
4. Apakah terdapat hubungan ekspresi gen AR dengan kejadian hipospadia?
5. Apakah ada hubungan polimorfisme promotor gen ATF3 dengan ekspresi gen ATF3 pada penderita hipospadia?

6. Apakah ada hubungan polimorfisme promotor gen AR dengan ekspresi gen AR pada penderita hipospadia?

### **1.3. Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1. Tujuan Umum**

Penelitian ini bertujuan menganalisis hubungan polimorfisme promotor dan ekspresi gen ATF3 dan AR dengan kejadian hipospadia.

#### **1.3.2. Tujuan Khusus**

1. Menganalisis perbedaan distribusi polimorfisme promotor gen ATF3 pada penderita hipospadia dibandingkan dengan kontrol.
2. Menganalisis perbedaan distribusi polimorfisme promotor gen AR pada penderita hipospadia dibandingkan dengan kontrol.
3. Menganalisis hubungan ekspresi gen ATF3 dengan kejadian hipospadia.
4. Menganalisis hubungan ekspresi gen AR dengan kejadian hipospadia.
5. Menganalisis hubungan antara polimorfisme promotor gen ATF3 dengan ekspresi gen ATF3 pada penderita hipospadia.
6. Menganalisis hubungan antara polimorfisme promotor gen AR dengan ekspresi gen AR pada penderita hipospadia.

### **1.4. Manfaat Penelitian**

1. Bagi Ilmu Pengetahuan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan bagi khazanah ilmu pengetahuan tentang peranan polimorfisme promotor dan

ekspresi gen ATF3 dan AR dihubungkan dengan kejadian hipospadia untuk pengembangan konsep etiologi pada penderita ini.

## 2. Bagi Praktisi

Dengan diketahuinya peranan polimorfisme daerah promotor dan ekspresi gen ATF3, AR dihubungkan dengan etiologi hipospadia, sehingga dapat memberikan penjelasan yang optimal pada penderita hipospadia dan keluarga.

## 3. Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bahwa adanya kaitan faktor genetik (polimorfisme daerah promotor gen ATF3 dan AR) dengan kejadian hipospadia, dan diharapkan dapat mengurangi kejadian hipospadia dengan meminimalisasi pajanan faktor risiko lingkungan.

