

HUBUNGAN POLIMORFISME GEN SCN1A DENGAN RESPONS TERHADAP OBAT ANTI EPILEPSI FENITOIN DAN KARBAMAZEPIN

SCN1A GENE POLYMORPHISMS, RESPONSE TO PHENYTOIN AND CARBAMAZEPINE

Ardefiyenti, Basjiruddin A**, Jamsari MP****

ABSTRACT

Introduction: Phenytoin and carbamazepine are the first line AED (anti-epileptic drug) that are widely used in the treatment of epilepsy. Phenytoin and carbamazepine work by blocking sodium channels. SCN1A gene is a gene that codes the formation of the sodium channel. The presence of functional polymorphisms will cause disruption to the sodium canal, causing AED does not work to overcome seizures. This study purposed to determine the type of SCN1A gene polymorphism and response to AED.

Methods: This is a cross-sectional study involving 52 people with epilepsy who have been treated with phenytoin and carbamazepine, both of which responded or not responded to the AED based on established criteria. We perform DNA isolation from venous blood samples, SCN1A gene amplification and sequencing of exon 5 of this gene. The results of sequencing was analyzed to determine the type of mutations (polymorphisms). Statistical analysis was performed with the Fisher test to determine the type of association with the response to AED polymorphism.

Results: Of the 52 people with epilepsy consisting of idiopathic epilepsy (n = 44) and symptomatic epilepsy (n = 8), there were 26 people responded to the AED and 26 people who did not responded. Phenytoin is used in 33 people and carbamazepine is used in 19 people with epilepsy. It was obtained some type of mutation and the mutation of c. 741 C> G was significantly associated with response to phenytoin.

Discussion: There is significant association between SCN1A polymorphism with patient's response to phenytoin but no association with response to carbamazepine.

Keywords: AED response, carbamazepine, phenytoin, SCN1A gene polymorphisms.

ABSTRAK

Pendahuluan: Fenitoin dan karbamazepin adalah OAE (obat anti epilepsi) lini pertama yang banyak digunakan dalam pengobatan epilepsi. Fenitoin dan karbamazepin bekerja dengan memblokir kanal natrium. Gen SCN1A adalah gen yang mengkode pembentukan kanal natrium tersebut. Terdapatnya polimorfisme gen ini akan menyebabkan gangguan fungsional pada kanal natrium sehingga menyebabkan OAE tidak bekerja mengatasi kejang. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui tipe polimorfisme gen SCN1A dengan respon terhadap OAE.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian potong lintang yang melibatkan 52 orang penderita epilepsi yang telah mendapatkan OAE fenitoin dan karbamazepin baik yang berespons maupun yang tidak berespons dengan OAE tersebut berdasarkan kriteria yang telah ditetapkan. Dilakukan isolasi DNA dari sampel darah vena, amplifikasi gen SCN1A ekson 5 dan sekuensing. Kemudian dilakukan analisis hasil *sequencing* untuk menentukan jenis mutasi (polimorfisme). Analisis statistik menggunakan uji Fisher untuk menentukan hubungan tipe polimorfisme dengan respon terhadap OAE.

Hasil: Dari 52 orang penderita epilepsi yang terdiri dari epilepsi idiopatik (n = 44) dan epilepsi simtomatik (n=8) sebanyak 26 orang berespons terhadap OAE dan 26 orang tidak berespons terhadap OAE. Fenitoin digunakan pada 33 orang penderita dan karbamazepin pada 19 orang penderita epilepsi. Didapatkan beberapa tipe mutasi dan pada mutasi c. 741 C>G berhubungan secara bermakna dengan respons terhadap OAE fenitoin.

Diskusi: Terdapat hubungan yang bermakna antara polimorfisme gen SCN1A dengan respons penderita terhadap fenitoin, namun tidak bermakna terhadap karbamazepin.

Kata Kunci: fenitoin, karbamazepin, polimorfisme gen SCN1A, respon terhadap OAE.

*Staf Dinas Kesehatan Propinsi Sumatera Barat, **Staf Pengajar Ilmu Penyakit Saraf FK Universitas Andalas **Staf Pengajar Fakultas Pertanian Universitas Andalas, Padang.

Korespondensi: dr_ardefi@yahoo.com

PENDAHULUAN

Obat anti epilepsi (OAE) dapat mengontrol sebagian bangkitan epilepsi, namun pada sebagian kasus tidak berespons terhadap pengobatan atau membutuhkan dosis obat yang lebih besar untuk mengatasi bangkitan epilepsi. Proporsi kasus yang tidak berespons dengan pengobatan ini bervariasi. Tiga puluh persen diantara epilepsi adalah epilepsi ringan yang tidak memerlukan terapi dan akan mengalami remisi dalam waktu singkat, 30% dapat dikontrol dengan OAE, 20% mengalami epilepsi kronik yang hanya berespons sebagian dengan OAE, sedangkan 20% lainnya hanya berespons sedikit dengan OAE. Dasar dari kurangnya respons terhadap pengobatan masih belum diketahui, namun kemungkinan multifaktorial.^{1,2}

Fenitoin dan karbamazepin adalah OAE lini pertama yang terjangkau dan banyak tersedia sehingga digunakan secara luas. Dosis yang digunakan bervariasi dengan dosis pemeliharaan ditentukan berdasarkan respons pasien. Mekanisme kerja OAE ini adalah dengan memblokir kanal natrium.³ Adanya polimorfisme gen SCN1A, yaitu gen yang mengkode subunit α kanal natrium akan menyebabkan perubahan pada kanal tersebut sehingga fungsi kanal berubah atau menghilang. Telah dilakukan beberapa penelitian mengenai hubungan polimorfisme gen SCN1A dengan dosis OAE. Pada penelitian farmakogenetik terhadap 425 orang penderita berbagai tipe epilepsi di Inggris, didapatkan bahwa polimorfisme gen SCN1A IVS5-91 G>A (basa nukleotida G pada segmen S5 dari domain IV subunit α kanal natrium diganti dengan basa nukleotida A) berhubungan dengan dosis maksimum karbamazepin dan fenitoin. Penelitian di Cina terhadap 71 penderita epilepsi juga memperlihatkan hubungan antara polimorfisme gen tersebut dengan kadar serum fenitoin. Sedangkan pada penelitian terhadap 369 penderita epilepsi di Austria tidak didapatkan hubungan antara polimorfisme fungsional gen SCN1A dengan dosis karbamazepin pada penderita epilepsi fokal.⁴⁻⁶

Epilepsi dikategorikan tidak hanya berdasarkan tipe bangkitan, namun juga berdasarkan gambaran klinis lainnya. Epilepsi dan sindroma epilepsi secara garis besar dibagi menjadi idiopatik dan simtomatik.⁷ Bangkitan epilepsi merupakan perubahan tingkah laku singkat disebabkan cetusan neuronal sinkron dan ritmis di otak yang dapat melibatkan sistem tertentu pada otak atau dimulai pada area tertentu dan menyebar pada sirkuit kortikal dan subkortikal multipel. Hal ini terjadi karena peningkatan eksitasi dan penurunan inhibisi karena pengaruh sejumlah faktor, yaitu peningkatan aktivasi reseptor *N-metil D-aspartat* (NMDA), berkurangnya inhibisi yang dimediasi oleh *gamma aminobutyric acid* (GABA) A, bertambahnya potensial eksitasi pascasinaps, perubahan ruang konstan dendrit neuron pascasinaps, dan potensiasi oleh neuromodulator.⁹

Pintu voltase kanal natrium atau *voltage gated sodium channel* (VGSC) sangat banyak ditemukan pada sel yang dapat mengalami eksitasi. Kanal ini yang mentransport natrium ke dalam sel dan memegang peranan penting untuk menimbulkan dan mentransmisikan sinyal elektrik. Terdapatnya *single nucleotide polymorphism* (SNP) pada gen ini berhubungan dengan dosis OAE yang dibutuhkan untuk mengatasi kejang. Oleh karena itu, kanal natrium merupakan target sejumlah OAE lini pertama yang berperan penting dalam memulai dan meningkatkan potensial aksi pada neuron dan sel lain yang dapat tereksitasi secara elektrik seperti miosit dan sel endokrin.

Karakter kanal natrium adalah aktivasi, inaktivasi cepat, dan aliran ion selektif.¹⁰ Kanal ini merupakan kompleks multimerik yang besar dan terdiri dari subunit α dan β . Subunit α berbentuk porus yang berguna untuk ekspresi fungsional, tetapi kinetik dan voltase kanal dimodifikasi oleh subunit β . Subunit β terlibat dalam lokalisasi kanal dan interaksi dengan molekul sel adesi, matriks ekstraseluler dan sitoskeleton intraseluler. Subunit α diorganisasi dalam 4 domain homolog (I-IV), masing-masing mengandung 6 α helix transmembran (S1-S6) dan lengkung porus tambahan berlokasi antara segmen S5 dan S6.^{7,11}

Gen yang mengkode kanal natrium adalah SCN1A (*sodium channel voltage-gated type I, alpha subunit*). Gen ini terorganisir dalam 26 ekson, dan memberi instruksi untuk pembentukan 1976 sampai 2009 asam amino. Gen SCN1A memberikan instruksi untuk membuat satu bagian dari kanal natrium yaitu subunit alfa (disebut NaV1.1). Kanal ini terdapat pada otot dan otak yang mengontrol aliran ion natrium ke dalam sel. Di otak, kanal NaV1.1 terlibat dalam transmisi sinyal dari satu sel saraf ke sel saraf lain. Adanya mutasi menyebabkan pembentukan kanal yang nonfungsional, mengurangi produksi kanal, atau juga menyebabkan perubahan pada asam amino tunggal pada daerah kanal yang penting.⁴

Penelitian mengenai peranan genetik terhadap terjadinya farmakoresistensi ini baru diteliti pada beberapa etnis dengan hasil yang belum konsisten, sehingga perlu dilakukan penelitian pada populasi dengan etnis berbeda. Hal ini disebabkan oleh karena populasi manusia berbeda satu sama lainnya dalam variasi proporsi alel gen akibat pengaruh sejumlah faktor herediter. Penentuan genotipe tersebut akan membantu dokter dalam menatalaksana pasiennya, yaitu dalam memilih obat, memprediksi kemungkinan terjadinya efek samping, dan mengurangi waktu yang diperlukan untuk mencapai dosis yang efektif.^{3,8}

METODE

Penelitian dilakukan dengan disain studi potong lintang di RS Dr. M. Djamil Padang, terhadap 52 penderita epilepsi etnis minang baik epilepsi idiopatik maupun simtomatik yang telah mendapatkan OAE fenitoin atau karbamazepin selama minimal 1 tahun. Subyek dikelompokkan menjadi kelompok responder dan nonresponder sebanyak masing-masing 26 orang. Subyek dinyatakan tidak berespons (*non responder*) terhadap obat bila didapatkan minimal 4 bangkitan dalam setahun dengan dosis maksimal satu OAE atau bila mendapatkan kombinasi OAE (lebih dari satu OAE). Subyek dinyatakan berespons bila tidak mengalami kejang minimal selama 1 tahun setelah mendapatkan OAE.

Dilakukan isolasi DNA (*deoxyribonucleic acid*) dari darah vena untuk kemudian diamplifikasi dengan teknik PCR (*polymerase chain reaction*) *gradient* menggunakan suhu *annealing* 63,0; 62,0; 60,8; 59,4; 58,2, dan 57,0. Primer *forward* yang digunakan adalah AGGCTCTTTGTACCTACAGC dan primer *reverse* yaitu CATGTAGGGTCCGTCTCATT. Kemudian dilakukan sekuensing terhadap seluruh sampel di laboratorium Macrogen Korea Selatan dengan metoda Sanger menggunakan primer *forward*. Hasil sekuensing dianalisis dengan program BLAST dan *alignment* dengan Clustal W. Analisis statistik menggunakan uji Fisher dengan SPSS 17.0.

HASIL

Karakteristik dasar dari subyek penelitian dapat dilihat pada tabel 1. Rata-rata umur subyek adalah 35,77±16,01 tahun dengan jenis kelamin terbanyak adalah perempuan (61,5%). Sebagian besar (44,3%) subyek berpendidikan SLTA (Sekolah Lanjutan Tingkat Atas) dan tidak bekerja (55,8%). Dari segi lama pemakaian OAE didapatkan tidak banyak perbedaan antara subyek yang menggunakan OAE 1-5 tahun, 6-10 tahun, dan lebih dari 10 tahun. Sebanyak 33 subyek (63,5%) menggunakan fenitoin dan sisanya menggunakan karbamazepin. Tidak didapatkan perbedaan yang bermakna antara karakteristik pasien yang berespons dengan yang tidak berespons terhadap OAE.

Tabel 1. Karakteristik subyek penelitian (n = 52)

Karakteristik	Responder n (%)	Non-responder n (%)	Total n (%)	Nilai p
Rerata umur (thn) ± simpang baku	36,6 ± 15,61	34,85 ± 16,65	35,77 ± 16,01	0,682
Jenis Kelamin:				
-Laki-laki	9 (34,6%)	11 (42,3%)	20 (38,5%)	0,569
-Perempuan	17 (65,4%)	15 (57,7%)	32 (61,5%)	
Pendidikan:				
-SD	4 (15,4%)	5 (19,2%)	9 (17,3%)	0,545
-SLTP	2 (7,7%)	5 (19,2%)	7 (13,5%)	
-SLTA	12 (46,2%)	11 (42,3%)	23 (44,3%)	
-PT	8 (30,8%)	5 (19,2%)	13 (25%)	
Pekerjaan:				
-PNS/ABRI	6 (23,1%)	4 (15,4%)	10 (19,2%)	0,857
-wiraswasta	1 (3,8%)	2 (7,7%)	3 (5,8%)	
-pelajar/mahasiswa	5 (19,2%)	5 (19,2%)	10 (19,2%)	
-tidak bekerja	14 (53,8%)	15 (57,7%)	29 (55,8%)	

Jenis Epilepsi:				
-idiopatik	21 (80,8%)	23 (88,5%)	44 (84,6%)	0,703
-simtomatik	5 (19,2%)	3 (11,5%)	8 (15,4%)	

Keterangan: SD=Sekolah Dasar, SLTP=Sekolah Lanjutan Tingkat Pertama, SLTA=Sekolah Lanjutan Tingkat Atas, PT = Perguruan Tinggi, PNS= Pegawai Negeri Sipil, ABRI=Angkatan Bersenjata Republik Indonesia

Dari hasil isolasi DNA didapatkan kualitas DNA yang cukup baik, ditandai dengan terbentuknya pita yang bersih dan tidak terdapat fragment *smear* di bawah fragmen utama. Kualitas dan kuantitas DNA ditentukan dengan membandingkan intensitas cahaya dan ketebalan pita DNA sampel dengan marker (λ DNA 50 ng/ μ l). Produk DNA yang dihasilkan dari proses amplifikasi memiliki ukuran fragmen 199 pasangan basa (*base pairs* = bp). Urutan basa yang diperoleh dari hasil sekuensing selanjutnya dianalisis dengan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). Pada penelitian ini fragmen DNA yang dianalisis memiliki tingkat homologi yang cukup tinggi dengan gen yang terdapat dalam bank gen. Hasil analisis juga mendapatkan kesesuaian antara fragmen DNA dengan salah satu gen pada bank gen dengan nomor kode NT.005403.17 dan NM_001165963.1 (rs 3812718). Pada penelitian ini digunakan standar NM_001165963.1 karena pada sebagian penelitian sebelumnya juga menggunakan standar yang sama.^{14,15,20}

Setelah diedit dilakukan penyejajaran dengan menggunakan *software* Clustal-W 1.83 untuk *multiple sequence alignment*. Dari hasil penyejajaran yang dilakukan terhadap 1 standar gen SCN1A terdapat perbedaan pada lokasi sebagai berikut: substitusi basa A dengan T pada basa ke 675 koding DNA (c.675) pada sampel subyek nomor 25 dan 40, c.720 A>T (basa nukleotida A diganti dengan T pada posisi basa ke 720 *coding* DNA) juga pada sampel nomor 25 dan 40, c.741 C>G terjadi pada sebagian besar sampel, kecuali pada sampel nomor 4, 7, 15, 17, 18, 19, dan 20, serta c.751 A>T ditemukan pada sampel nomor 16, 17, 18, 19, dan 20.

Tabel 2. Distribusi mutasi gen SCN1A berdasarkan OAE yang digunakan

Obat Anti Epilepsi	Jenis polimorfisme (mutasi)							
	c.675 A>T		c.720 A>T		c.741 C>G		c.751 A>T	
	R	NR	R	NR	R	NR	R	NR
Fenitoin	1	0	1	0	12	16	3	1
Karbamazepin	1	0	1	0	7	10	1	0
Total	2	0	2	0	19	26	4	1

Keterangan: R= Responder, NR= nonresponder

Tabel 2 memperlihatkan distribusi mutasi gen SCN1A berdasarkan OAE yang digunakan. Terlihat bahwa jenis mutasi c.741 C>G merupakan yang terbanyak ditemukan pada subyek yang menggunakan baik fenitoin maupun karbamazepin.

Tabel 3. Hubungan antara genotip gen SCN1A dengan respons terhadap OAE

Genotip	Responder		Non-Responder		Total		p
	n	%	n	%	n	%	
c. 675 A>T	2	7,7	0	0	2	3,8	0,490
c. 720 A>T	2	7,7	0	0	2	3,8	0,490
c. 741 C>G	19	73,1	26	100	45	86,5	0,010
c. 751 A>T	4	15,4	1	3,8	5	9,6	0,350

Pada Tabel 3 terlihat adanya hubungan yang bermakna ($p = 0,044$) antara jenis polimorfisme c.741 C>G responder terhadap OAE (gabungan fenitoin dan karbamazepin). Sedangkan pada jenis polimorfisme lain tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok responder dan non-responder.

Tabel 4. Hubungan genotip gen SCN1A dengan respons terhadap fenitoin

Genotip	Responder		Non-Responder		Total		p
	n	%	n	%	n	%	

c. 675 A>T	1	5,9	0	0	1	3,0	1,000
c. 720 A>T	1	5,9	0	0	1	3,0	1,000
c.741 C>G	12	70,6	13	100	28	84,8	0,044
c. 751 A>T	3	17,6	0	0	4	12,1	0,601
Total	17		13		34		

Bila dilakukan pengkajian hubungan polimorfisme ini terhadap fenitoin saja, didapatkan hubungan yang bermakna ($p = 0,044$) antara respons terhadap fenitoin dengan genotip c. 741 C>G (Tabel 4).

Tabel 5. Hubungan genotip gen SCN1A dengan respons terhadap karbamazepin

Genotip	Responder		Non-Responder		Total		p
	n	%	n	%	n	%	
c. 675 A>T	1	11,1	0	0	1	5,3	0,474
c. 720 A>T	1	11,1	0	0	1	5,3	0,474
c. 741 C>G	7	77,8	10	100	17	89,5	0,211
c. 751 A>T	1	11,1	0	0	1	5,3	0,474
Total	10		10		20		

Pada tabel 5 terlihat bahwa tidak terdapat hubungan yang bermakna antara mutasi gen SCN1A dengan respons terhadap OAE karbamazepin pada jenis epilepsi idiopatik, sedangkan pada tipe epilepsi simtomatik tidak didapatkan subyek yang menggunakan karbamazepin pada penelitian.

PEMBAHASAN

Penelitian mengenai polimorfisme gen ini telah dilakukan di berbagai negara dengan berbagai etnis dengan jumlah sampel yang berbeda-beda. Penelitian ini dilakukan pada etnis Minang dengan jumlah sampel 52. Jumlah sampel pada penelitian ini tidak jauh berbeda dengan penelitian Heinzen dkk di Amerika Serikat yaitu sebanyak 43 orang, namun jauh lebih sedikit dibanding kebanyakan penelitian lain yang subyeknya berjumlah ratusan penderita epilepsi. Tate dkk meneliti 425 subyek epilepsi di Inggris dan 71 subyek di China, Kumari dkk terhadap 402 subyek di India, Zhou dkk terhadap 448 subyek di China, Manna dkk pada 482 penderita epilepsi yang resisten dan 401 penderita yang berespons dengan OAE di Italia, dan Kwan dkk terhadap 471 subyek di China. Laxman dkk melakukan pemeriksaan genotipe terhadap 160 orang subyek kontrol dan 336 penderita epilepsi di India dimana 117 orang dengan resisten terhadap obat dan 219 orang berespons terhadap obat. Haerian dkk meneliti 643 orang penderita epilepsi di Malaysia (47% diantaranya tidak berespons dengan OAE) dan 564 orang kontrol. Abe dkk melakukan penelitian terhadap 228 penderita epilepsi di Jepang dan Jang dkk terhadap 400 penderita epilepsi di Korea yang responsif dan tidak responsif dengan OAE.¹⁴⁻²³

Rata-rata umur subyek pada penelitian ini adalah $35,77 \pm 16,01$ tahun dengan rentang antara 12 sampai 75 tahun, jumlah laki-laki 20 orang dan wanita 32 orang. Ini hampir sama dengan penelitian Heinzen dkk (2007) dengan usia rentang subyek 18-60 tahun (terdiri dari 15 laki-laki dan 28 wanita). Penelitian Kumari dkk (2010) mengikutsertakan subyek dengan usia rata-rata $24,5 \pm 11,5$ tahun, lebih muda dibanding subyek pada penelitian ini, dengan jumlah laki-laki lebih banyak (70,8%) dibanding wanita (29,2%). Pada penelitian Tate dkk juga didapatkan rata-rata usia subyek yang lebih muda yaitu 26 tahun dengan jumlah wanita (166) lebih banyak dibanding pria (115). Pada penelitian Abe dkk rata-rata usia subyek adalah $20,1 \pm 10,2$ tahun dengan jumlah laki-laki lebih banyak dibanding wanita (78 dan 55 orang). Pada penelitian Jang dkk rata-rata usia adalah $17,35 \pm 16,3$ tahun (pada kelompok yang responsif) dan $12,01 \pm 11,27$ (pada kelompok yang nonresponsif).^{3,14, 15, 22, 23}

Tipe epilepsi terbanyak pada penelitian ini adalah epilepsi idiopatik dan tidak terdapat tipe epilepsi kriptogenik selama periode penelitian yang berkunjung ke poliklinik. Ini berbeda dengan penelitian Jang dkk dimana yang terbanyak adalah epilepsi simtomatik, sedangkan pada penelitian Abe dkk tipe epilepsi terbanyak adalah epilepsi kriptogenik.^{22,23} Dari segi lama pemakaian OAE, pada penelitian ini tidak didapatkan banyak perbedaan antara subyek yang menggunakan OAE 1-5 tahun, 6-10 tahun dan lebih

dari 10 tahun. Rata-rata lama penggunaan OAE pada Abe dkk adalah 9,2_±4,4 tahun, sedangkan pada penelitian lain tidak dijelaskan.²²

Pada penelitian ini diteliti 2 macam OAE yaitu fenitoin dan karbamazepin. Ini sama dengan penelitian Tate dkk yang juga meneliti mengenai respons penderita epilepsi terhadap fenitoin. Penelitian Abe dkk hanya mengenai karbamazepin, Haerian dkk adalah mengenai respons terhadap karbamazepin dan asam valproat, Lakhan dkk meneliti fenitoin, karbamazepin, asam valproat dan fenobarbital, Manna dkk meneliti karbamazepin dan okskarbazine, dan Zhou dkk meneliti hubungan genotip dengan respons terhadap karbamazepin. Penelitian Heinzen dkk, Kwan dkk, Kumari dkk, dan Jang dkk tidak menjelaskan jenis OAE yang diteliti.^{3, 14-22}

Penelitian ini hanya meneliti mengenai polimorfisme gen SCN1A khususnya pada ekson 5. Ekson ini dipilih karena merupakan ekson yang paling banyak mengalami *splicing*. Hal ini sama dengan sebagian besar penelitian yang ada, kecuali penelitian Lakhan dkk yang meneliti gen SCN1A pada ekson 12, penelitian Kumari dkk, Kwan dkk, dan Jang dkk menilai beberapa ekson pada gen SCN1A dan juga menilai gen SCN2A dan SCN3A.^{16, 19, 20, 23, 24}

Penelitian ini menilai polimorfisme gen SCN1A dengan respons terhadap OAE yang dinilai berdasarkan data rekam medik dan anamnesis. Ini sama dengan sebagian besar penelitian sebelumnya dimana definisi respons terhadap obat ditentukan berdasarkan ada atau tidak adanya kejang setelah pemberian obat maksimal, sedangkan Tate dkk, Kwan dkk, dan Lakhan dkk menilai hubungan antara polimorfisme gen SCN1A dengan kadar serum fenitoin. Konsentrasi serum pada dosis pemeliharaan dipilih untuk mengurangi variasi antara dosis obat dan kadar serum (yang disebabkan faktor farmakokinetik) sehingga meningkatkan kemungkinan untuk mendeteksi variasi farmakodinamik pada target obat.^{15, 19, 20}

Penelitian ini dilakukan dengan teknik sekuensing terhadap semua sampel yang telah dilakukan amplifikasi DNANYa. Ini berbeda dengan penelitian sebelumnya dimana digunakan teknik *restriction fragment length polymorphism* (RFLP)-PCR dengan terlebih dahulu menentukan lokasi SNP yang hendak diteliti berdasarkan data bank gen dan hasil penelitian sebelumnya. Pada penelitian ini didapatkan hubungan polimorfisme fungsional gen SCN1A dengan respons terhadap OAE fenitoin dan karbamazepin. Polimorfisme ini sangat penting hubungannya dengan respons terhadap OAE yang bekerja melalui kanal natrium.

Pada penelitian ini didapatkan hubungan yang signifikan antara mutasi pada ekson 5 pada posisi basa 741 berupa substitusi basa C dengan G. Setelah dilakukan penjejajaran (*alignment*) didapatkan posisi mutasi ini pada ekson 5A. Ini berbeda dengan semua penelitian sebelumnya. Pada penelitian Tate dkk, Heinzen dkk, Tate dkk didapatkan bahwa SNP IVS5N+5 G>A, rs 3812718 (sebelumnya SCN1A IVS4-91 G→A) mempengaruhi besarnya dosis fenitoin dan karbamazepin yang diperlukan untuk mengatasi kejang pada penderita epilepsi. Disini didapatkan adanya perubahan basa nukleotida dari G menjadi A pada kanal natrium subunit IV pada ekson 5N + 5 (kira-kira pada urutan basa ke 719) berhubungan dengan respons terhadap OAE.

Variasi gen kanal natrium SCN1A memodulasi baik transkrip ekson canonical (5A) atau ekson alternatif (5N). Dilaporkan hubungan farmakogenetik pada peningkatan ekspresi ekson 5N ini. Menurut Tate dkk dosis OAE paling rendah pada pasien dengan fenotip GG, *intermediate* pada genotip GA dan paling tinggi pada genotip AA. Pada penelitian lain oleh sejumlah peneliti di China, ditemukan adanya hubungan antara SCN1AIVS5N+5 G>A dan konsentrasi serum fenitoin pada dosis pemeliharaan juga dengan perbandingan AA>GA>GG dari dosis tertinggi ke dosis terendah. Menurut Haerian dkk (2011) pembawa alel G pada pasien dengan bangkitan umum etnis India dan Malaysia lebih resisten terhadap VPA dibandingkan dengan alel A yang merupakan pembawa.^{3,14,21} Pada penelitian ini tidak didapatkan hubungan antara polimorfisme gen SCN1A ekson 5 dengan respons terhadap karbamazepin. Hasil ini sama dengan penelitian Haerian dkk namun berbeda dengan penelitian Abe dkk dan Tate dkk.^{3, 21, 22}

Perubahan basa pada posisi 741 (C berubah menjadi G) dan perubahan pada posisi 740 (C menjadi G) menyebabkan perubahan asam amino prolin menjadi glisin (kodon CCA pada *wild type* menjadi GGA). Perubahan ini akan mempengaruhi pembukaan dan penutupan pintu porus kanal. Porus tertutup pada ujung intraselulernya, terbuka dengan cara melipat pada daerah yang memiliki banyak residu glisin

(yang berfungsi seperti engsel). Sejumlah mutasi dapat mempengaruhi inaktivasi dengan memperlambat kinetik transisi keadaan tertutup dan keadaan terbuka dari kanal. Substitusi prolin menjadi glisin meningkatkan lipatan ini sehingga menstabilkan posisi kanal yang teraktivasi, menyebabkan potensial aksi berkelanjutan. Domain III-IV mengandung sejumlah residu *proline* dan glisin, asam amino yang merupakan komponen molekular pintu kanal sodium. Residu glisin diperlukan untuk fleksibilitas suatu polipeptida.^{12,13}

Kelemahan penelitian ini adalah tidak menilai pengaruh gen lain seperti gen *CYP2C9* yang mempengaruhi metabolisme dan gen *ABCB1* yang mempengaruhi transporter OAE, padahal interaksi gen dengan gen berhubungan dengan resistensi OAE, dan ini lebih penting dibandingkan gen tunggal. Kelemahan lainnya adalah hanya memeriksa satu ekson yaitu ekson 5, padahal kemungkinan terjadi mutasi yang signifikan mungkin ada pada lokasi lain dari gen. Ini terlihat pada sejumlah penelitian yang mendapatkan hubungan antara respons terhadap OAE dengan polimorfisme bukan pada ekson 5, misalnya Kumari dkk tidak mendapatkan hubungan antara polimorfisme fungsional SCN1A 3184 A>G atau IVS11+5 (rs2298771) dengan berbagai kelainan neurologi dan perubahan eksitabilitas membran.

Manna dkk meneliti hubungan antara varian .603-91G>A atau rs3812718) pada gen SCN1A dengan efektifitas dan dosis fenitoin dan karbamazepin yang diperlukan dan mendapatkan hasil yang tidak signifikan. Kwan dkk (2008) yang mendapatkan bahwa alel A pada gen SCN2A IV S7-32A>G berhubungan dengan resistensi terhadap OAE. Lakhani (2009) juga meneliti lokasi lain dari gen dan mendapatkan bahwa polimorfisme genotip AG gen SCN1A 3184 A→G lebih tinggi secara signifikan dan berhubungan dengan epilepsi, sedangkan varian A dari gen SCN2A c.56 G→A berhubungan dengan resistensi obat multipel pada pasien epilepsi di India Utara. Jang dkk meneliti interaksi antar gen dan hubungannya dengan respons terhadap OAE dan mendapatkan bahwa kombinasi dari 2 lokus pada gen SCN2A dan gen SCN1B dapat memperkirakan respons pasien terhadap OAE.^{18,19,23}

Pada penelitian ini juga didapatkan hubungan antara epilepsi idiopatik dengan respons terhadap OAE, sedangkan Heinzen dkk mendapatkan hubungan ini dengan berbagai tipe epilepsi.¹⁴

Keterbatasan lain dari penelitian ini adalah tidak memeriksa kadar serum dari obat antiepilepsi, karena terdapat perbedaan antara dosis obat yang dikonsumsi dengan kadar serum akibat adanya polimorfisme gen juga pada metabolisme obat. Keterbatasan lain adalah cara pemberian OAE di poliklinik yang sering secara politerapi, dengan memberikan obat kedua sebelum dosis maksimal obat pertama dicapai. Perbedaan hasil ini dengan penelitian sebelumnya kemungkinan juga adalah perbedaan dari strategi dosis. Bila satu obat epilepsi terbukti tidak efektif, kemudian diganti dengan OAE lain dan bukannya dengan meningkatkan dosis OAE pertama. Lagi pula di Indonesia biasanya digunakan dosis awal yang lebih rendah dibanding negara lain.

KESIMPULAN

Terdapat hubungan bermakna antara genotip c.741 C>G gen SCN1A dengan respons terhadap fenitoin, dan tidak terdapat hubungan bermakna antara polimorfisme gen SCN1A dengan respons terhadap karbamazepin. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui hubungan antara polimorfisme gen dengan respons terhadap OAE, karena respons seseorang terhadap obat dipengaruhi berbagai faktor dan berbagai gen. Penelitian dimaksud yaitu penelitian yang melibatkan jumlah sampel yang lebih besar dengan memeriksa kadar serum dari OAE serta meneliti gen yang mempengaruhi metabolisme dan transpor OAE.

DAFTAR PUSTAKA

1. Semah F, Ryflin P. Can we predict refractory epilepsy at the time of diagnosis? *Epileptic Disord* 2005;(7):S10-S13.
2. Sisodiya SM, Lin WR, Harding BN, Squier MV, Thom M. Drug resistance in epilepsy: expressions of drug resistance proteins in common causes of refractory epilepsy. *Brain* 2002;125:22-31.
3. Tate SK, Depondt C, Sisodiya SM, Cavalleri GL, Schorge S, Soranzo N, *et al*. Genetic predictors of the maximum doses patients receive during clinical use of the anti-epileptic drugs carbamazepine and phenytoin. *PNAS* 2005;102(15):5507-12
4. Barela AJ, Waddy SP, Lickfett JG, Hunter J, Anido A, *et al*. An epilepsy mutation in the sodium channel SCN1A that decreased channel excitability. *J Neuroscience* 2006;26(10):2714-23.

5. Tate SK, Singh R, Hung CC, Tai JJ, Depondt C, *et al.* A common polymorphism in the SCN1A gene associates with phenytoin serum levels at maintenance dose. *Pharmacogenetics and Genomics* 2006;16(10):721-6
6. Zimprich F, Stogmann E, Bonelli S. A functional polymorphism in the SCN1A gene is not associated with carbamazepine dosages in Austrian patients with epilepsy. *Epilepsia* 2008;49(6):1108-9.
7. Ottman R and Winawer MR. Genetic epidemiology. Dalam: Engel J, Pedley T, editor. *Epilepsy a comprehensive textbook*. Edisi kedua. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins;2008.hlm.161-8.
8. Foster MW and Sharp RR. Race, ethnicity, and genomic: social classification as proxies of biological heterogeneity. *Genome Res* 2002;12:844-50.
9. Paredes GS. Recent advances in the neurochemistry of epilepsy. *European Neurol Rev* 2008;96-8.
10. Catterall WA. From ionic currents to molecular mechanisms: the structure and function of voltage-gated sodium channel. *Neuron* 2000;26:13-25.
11. Arora S, Mahajan B, Gupta K, Chopra P. Voltage-gated sodium channel: physiology, pathology and therapeutic potential. *J Anaesth Clin Pharmacol* 2005;21(2):125-36.
12. Kellenberger S, West JW, Catterall WA, Scheuer. Molecular analysis of potential hinge residues in the inactivation gate of brain type IIa Na⁺ channels. *Rockefeller University Press* 1997;(5):607-17.
13. Manhold R, Kubinyi H, Folkers G. Voltage gated ion channel as drug target. *Wiley* 2006:13-6.
14. Heinzen EL, Yoon W, Tate SK, Sen A, Wood NW, *et al.* Nova2 interacts with a *cis*-acting polymorphism to influence the proportions of drug-responsive splice variants of *SCN1A*. *American J Hum Genet* 2007;80:876-83.
15. Tate SK, Singh R, Hung CC, Tai JJ, Depondt C, *et al.* A common polymorphism in the SCN1A gene associates with phenytoin serum levels at maintenance dose. *Pharmacogenetics and Genomics* 2006;16(10):721-6.
16. Kumari R, Lakhan R, Garg RK, Kalita J, Misra UK, *et al.* Pharmacogenomic association study on the role of drug metabolizing, drug transporters and drug target gene polymorphisms in drug-resistant epilepsy in North Indian population. *Indian J Hum Genet* 2011;17:32-40.
17. Zhou BT, Zhou QH, Yin JY, Li GL, Xu XJ, *et al.* Comprehensive analysis of the association of SCN1A gene polymorphisms with retention rate of carbamazepine monotherapy for new-onset focal seizures in the Chinese Han population. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2012:31-6.
18. Manna I, Gambardella A, Bianchi A, Striano P, Tozzi R, *et al.* The functional polymorphism in the SCN1A gene does not influence antiepileptic drug responsiveness in Italian patients with focal epilepsy. *Epilepsia* 2011.
19. Kwan P, Poon WS, Kang DE, Wong V, Lui CH, *et al.* Multidrug resistance in epilepsy and polymorphism in the voltage-gated sodium channel genes SCN1A, SCN2A, SCN3A: correlation among phenotype, genotype, and mRNA expression. *Pharmacogenet Genomics* 2008;18 (1):989-98.
20. Kumari R, Lakhan R, Garg RK, Kalita J, Misra UK, *et al.* Pharmacogenomic association study on the role of drug metabolizing, drug transporters and drug target gene polymorphisms in drug-resistant epilepsy in North Indian population. *Indian J Hum Genet* 2011;17:32-40.
21. Haerian BS, Lim KS, Tan HJ, Wong CP, Wong SW, *et al.* SCN1A IVS5N+5 G>A polymorphism and response to drug treatment in epilepsy: A cohort study and a meta-analysis. *Las Vegas: Pharmaceutical B & B Summit*;2011.
22. Abe T, Seo T, Ishizu T, Nakagawa T, Hori M, *et al.* Association between SCN1A polymorphism and carbamazepine-resistant epilepsy. *British J Clin Pharmacology* 2008;66(2):304-7.
23. Jang SY, Kim MK, Lee KR, Park MS, *et al.* Gene-to-gene interaction between sodium channel-related genes in determining the risk of antiepileptic drug resistance. *J Korean Med Sci* 2009;24:62-8.
24. Hajj S, Priestley T. Voltage-gated sodium channels. Dalam: Kew J, Davies C, editor. *Ion channel from structure to function*. Oxford university press; 2010.hlm.131-50.