

KONTRIBUSI POLIMORFISME 1513 A→C GEN P2X₇ TERHADAP KERENTANAN TUBERKULOSIS EKSTRAPULMONER

CONTRIBUTION OF THE P2X₇ 1513 A→C POLYMORPHISM TO EXTRAPULMONARY TUBERCULOSIS SUSCEPTIBILITY

Susi Aulina*, Irawan Yusuf**, Suryani As'ad***, Rizalinda Sjahlil*

ABSTRACT

Introduction: Tuberculosis (TB) is a global health problem. A complex interaction between *Mycobacterium tuberculosis* genotype, environment, and host govern the development of TB disease but the genetic variation (polymorphism) is likely to be polygenic in nature. The most common identified is the 1513 A→C P2X₇ gene polymorphism.

Aims: To determine the genetic variations (polymorphisms) of P2X₇ gene 1513A→C extrapulmonary TB (TBep) susceptibility.

Methods: The research design is analyzed case control with selective consecutive sampling. This study compared the P2X₇ gene polymorphism 1513A→C in the TBep case group with pulmonary TB (TBp) control patients who visit the dr. Wahidin Sudirohusodo Hospital, Labuang Baji Hospital, Center for Public Lung Health, and some private practices in Makassar from May 2012 to May 2013. Genomic examination were carried out at the Microbiology Laboratory Medical Faculty of Hasanuddin University, Makassar.

Results: The results gained 98 subjects consisting each of 49 subjects of TBep and TBp, plus 31 samples of TBep+p. AC genotype frequencies are 8.5%, 14.7%, and 8.5% in the TBep, TBp and TBep+p, respectively. CC genotype was not found in all groups. Statistic analysis that compare the genotype and allele frequency distribution to calculate the susceptibility of TBep group than TBp resulted ($p=0.080$; OR 0.457 and $p=0.112$; OR 0.112). Multivariate analysis were performed based on the variables age group, gender and P2X₇ gene polymorphism 1513 A→C, showed OR 2.188 for polymorphisms variable higher than the other variables.

Discussions: The P2X₇ gene polymorphisms 1513 A→C give small contribution of extrapulmonary TB susceptibility.

Keywords: extrapulmonary tuberculosis, P2X₇ 1513 A→C gene polymorphism.

ABSTRAK

Pendahuluan: Tuberkulosis (TB) merupakan masalah kesehatan global. Interaksi kompleks antara mikobakterium TB dengan faktor lingkungan dan faktor genetik inang sangat berperan dalam berkembangnya penyakit TB. Variasi genetik (polimorfisme) pada berbagai gen (poligenik) diduga berkontribusi terhadap kerentanan klinis TB, yang banyak diteliti ialah polimorfisme 1513 A→C gen P2X₇.

Tujuan: Mengetahui kontribusi polimorfisme 1513 A→C gen P2X₇ terhadap kerentanan TB ekstrapulmoner (TBep).

Metode: Merupakan penelitian *analyzed case-control* dengan *selective consecutive sampling*, membandingkan polimorfisme 1513A→C gen P2X₇ antara kelompok kasus TBep dengan kelompok kontrol TB pulmoner (TBp). Sampel adalah pasien yang berkunjung ke RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo, RS Labuang Baji, Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat, dan beberapa praktek dokter swasta di Makassar, sejak Mei 2012 hingga Mei 2013. Pemeriksaan genomik dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Hasil: Diperoleh 98 subjek yang terdiri dari 49 TBep dan 49 TBp, ditambah 31 subjek TBep+p. Frekuensi genotip AC ditemukan berturut-turut sebesar 8,5%, 14,7%, dan 8,5% pada

kelompok TBep, TBp, dan TBep+p. Tidak dijumpai genotip CC pada semua kelompok. Terdapat perbedaan distribusi frekuensi genotip dan alel yang bermakna terhadap kerentanan kelompok TBep dibanding TBp. Variabel polimorfisme memiliki rasio Odds 2,188 pada kelompok TBep dibanding TBp, lebih tinggi dibanding variabel lainnya.

Diskusi: Terdapat kontribusi minimal polimorfisme 1513A→C gen P2X₇ terhadap kerentanan TBep.

Kata Kunci: kontribusi polimorfisme 1513A→C gen P2X₇, tuberkulosis ekstrapulmoner.

*Staf Pengajar Departemen Neurologi FK Universitas Hasanuddin, Makassar, **Staf Pengajar Departemen Ilmu Fisiologi FK Universitas Hasanuddin, Makassar, ***Staf Pengajar Departemen Ilmu Gizi Klinik FK Universitas Hasanuddin, Makassar. **Korespondensi:** susi_aulina@yahoo.co.id.

PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit granulomatosa kronik yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* (MTb). Selain menyerang pulmoner pada lebih dari 85% kasus TB aktif di negara yang berinsidensi TB tinggi, MTb dapat juga menyerang organ lain (ekstrapulmoner) yang lazim ditemui di negara dengan insidensi TB rendah terutama pada penderita HIV dan imigran asal negara dengan insidensi TB tinggi.^{1,2}

Secara epidemiologi diketahui TB menginfeksi sepertiga penduduk dunia, walau hanya 5-10% dari populasi yang mengalami infeksi primer akan bermanifestasi klinis, hampir 80% diantaranya dapat berkembang progresif dalam 2 (dua) tahun sesudah infeksi. Fakta ini menimbulkan pertanyaan mengapa sebagian individu *survive* terhadap infeksi TB sedang sebagian lainnya tidak. Besar harapan pertanyaan ini akan terjawab oleh *Human Genome Project* yang sedang mengidentifikasi gen yang rentan terhadap TB dengan dibantu oleh *the genome wide map of expressed sequence tags* (EST).³

Selain itu juga belum diketahui mengapa TB menyebar ke meninges dan susunan saraf pusat pada sekelompok individu, sedang pada kebanyakan populasi, penyakit terlokalisir di pulmoner. Interaksi yang kompleks antara MTb dengan faktor lingkungan dan faktor genetik inang sangat berperan dalam berkembangnya penyakit TB.^{7,8,9}

MTb *strain* Eropa-Amerika, secara bermakna lebih rentan bermanifestasi sebagai TB pulmoner (TBp).¹⁰ Beberapa faktor meningkatkan angka kasus TB hingga 2-4 kali lipat, antara lain faktor lingkungan seperti pencahayaan matahari yang tak memadai (berhubungan dengan kadar vitamin D3 yang rendah), faktor stres yang meninggikan kadar glukokortikoid, atau faktor merokok lebih dari 20 batang per hari. Faktor malnutrisi cenderung ditemukan bersamaan dengan kemiskinan, stres, dan merokok. Di Indonesia, penyakit TB erat berkaitan dengan kemiskinan dan diabetes melitus (DM).¹¹ Selain itu, koinfeksi dengan *human immunodeficiency virus* (HIV) dan faktor lingkungan dapat menurunkan imunitas sel T dan hal ini menjadi faktor predisposisi berkembangnya penyakit menjadi bentuk aktif.¹² Perbedaan etnis dan rasial dalam kecenderungan infeksi TB pada manusia sehubungan dengan polimorfisme 1513 A→C pada gen P2X₇ telah dilaporkan. Namun gen spesifik apa yang berkontribusi belum sepenuhnya diketahui.^{1,8,12,13,14} Oleh karena itu Xiao dkk melakukan metaanalisis terhadap penelitian polimorfisme gen P2X₇ dengan kerentanan terhadap TB, yang mendapatkan bahwa polimorfisme pada lokus 1513 secara bermakna berkaitan dengan kerentanan TB, tidak pada lokus-762.¹⁴ Setelahnya masih terus dilakukan penelitian yang sama terhadap populasi di Punjabi dan populasi di India.⁹ Keduanya memperoleh hasil akhir yang sama yaitu polimorfisme pada gen P2X₇ berkontribusi terhadap kerentanan TBep,

berbeda dengan yang diperoleh pada populasi di India, polimorfisme pada gen P2X₇ berkaitan dengan TBp.

Terdapat tujuh gen untuk subunit reseptor P2X. Lokasi gen P2X₇ terletak pada kromosom 12q24.31, menyandi reseptor P2X₇ yang terekspresi banyak di makrofag.¹⁵ Aktivasi reseptor purinergik P2X₇ oleh ATP ekstraseluler menginduksi pembunuhan mikobakteria intraseluler. Diawali dengan terbukanya saluran selektif kation, Ca⁺² masuk menginduksi kaskade kaspase yang berakhir dengan apoptosis, diikuti dengan aktifnya fosfolipase D terjadi fusi fagosom lisosom yang mengakibatkan matinya mikobakteria. Telah teridentifikasi beberapa *single nucleotide polymorphism* (SNP) pada P2X₇ yang mengganggu pembunuhan mikobakteria yang dimediasi ATP antara lain 1729 T→A, -762 T→C, 151+1 g→t, dan 1513 A→C. Ketiga polimorfisme pertama tidak dijumpai pada populasi di Asia Tenggara.

Polimorfisme yang tersering diteliti ialah polimorfisme 1513A→C gen P2X₇ yang menyebabkan perubahan asam amino dari asam glutamat pada posisi asam amino 496 menjadi alanin pada terminal karboksi P2X₇. Makrofag penderita TB yang heterozigot 1513A→C kehilangan 50% fungsinya dalam kemampuan membunuh mikobakteri, sedangkan pada homozigot 1513C kemampuan ini hilang 100%.^{1,16} Aktivasi reseptor P2X₇ oleh ATP membuka saluran selektif kation, dan hal ini memungkinkan fungsi P2X₇ diukur melalui kemampuannya menyerap ethidium dalam makrofag yang diaktivasi oleh IFN- γ sehingga disimpulkan bahwa karena pada heterozigot polimorfisme P2X₇ kemampuannya menurun 50% dalam menyerap ethidium, berarti bahwa kemampuannya membunuh bakteri juga berkurang 50%.¹⁷ Di sisi lain dari pengalaman klinik di bidang neurologi, tidak jarang ditemui kasus-kasus lesi TBep di dua tempat sekaligus yaitu di vertebra (mengakibatkan kompresi/spondilitis TB) dan di meninges (mengakibatkan meningitis TB).

Berdasarkan studi-studi tentang polimorfisme 1513 A→C gen P2X₇ di berbagai populasi dengan kesimpulan akhir yang berbeda-beda ditambah dengan pengalaman klinis di lapangan, dibuatlah penelitian tentang konstribusi polimorfisme 1513 A→C gen P2X₇ terhadap kerentanan tuberkulosis ekstrapulmoner ini yang belum pernah dilakukan di Indonesia. Penelitian yang melibatkan populasi Indonesia pernah dilakukan oleh Nejentsev dkk, 2008 (yang antara lain melibatkan peneliti Alisjahbana B dari Divisi Penyakit Infeksi dan Tropis Departemen Interna FK Universitas Padjajaran, Bandung) yang melaporkan bahwa tidak ada keterkaitan antara polimorfisme rs8177374 (C→T, S180L) pada *toll-interleukin-1 receptor domain-containing adaptor protein* (TIRAP) atau yang dikenal juga sebagai *MyoD180adaptor-like* (MAL) dengan kecenderungan terhadap tuberkulosis pada individu Rusia, Ghanaian, dan Indonesia.¹⁸ Tujuan penelitian ini adalah mengetahui kontribusi polimorfisme 1513 A→C gen P2X₇ dalam mempengaruhi fenotip penderita TB ekstrapulmoner.

METODE

Rancangan penelitian adalah *analyzed case control* pada pasien TB yang berkunjung ke RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo (RSWS) Makassar, RS Labuang Baji (RSLB), Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat (BBKPM) Makassar, dan beberapa DPS di Makassar. Pemeriksaan genomik dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar sejak Mei 2012–Mei 2013.

Sampel penelitian ialah pasien TBep dan TBp yang datang mengambil obat anti TB (OAT) di sentra pelayanan DOTS (*directly observed treatment short course chemotherapy*).

Kriteria inklusi ialah pasien semua usia yang sedang dalam pengobatan DOTS, spondilitis TB yang menjalani operasi dekomresi atau evakuasi abses (baik yang ada konfirmasi hasil pemeriksaan *gene expert* maupun yang tidak), meningitis TB (ada konfirmasi hasil pemeriksaan cairan serebrospinal), limfadenitis TB (ada konfirmasi hasil pemeriksaan histopatologi), atau penderita TBep lain (yang dikonfirmasi dengan hasil biopsi). Kriteria eksklusi adalah pasien yang menderita HIV, DM, atau mendapat terapi immunosupresif.

Metode pengambilan sampel adalah secara *selective consecutive sampling*. Terhadap sampel penelitian dilakukan 1) pemeriksaan bakteriologis MTb dari cairan abses pada spondilitis TB menggunakan mesin *gene expert* atau pemeriksaan *polymerase chain reaction* (PCR) terhadap cairan serebrospinal pasien meningitis TB, dan 2) ekstraksi DNA dari sampel darah tepi penderita dengan memakai kit Qiagen. Kemudian dilakukan PCR untuk diamplifikasi dan selanjutnya melalui elektroforesis diperoleh target pita 379bp, lalu dilakukan restriksi RLFP (*restriction fragment length polymorphism*) dengan reagen HaeII yang menurut *gene bank* akan memotong di 317bp dan 62bp.

Subjek dinilai berat ringannya TB yang diderita pasien, menjadi kelompok ringan jika terdapat TB kelenjar (limfadenitis TB) dan sendi; serta kelompok berat, yaitu menderita spondilitis TB dan TB usus.

Data yang diperoleh dicatat dan dikelompokkan berdasarkan tujuan dan jenis data. Kemudian dipilih metode statistik yang sesuai, dilakukan analisis dengan menggunakan SPSS versi 17.0 dengan tingkat kemaknaan $\alpha=5\%$. Dilakukan analisis bivariat perihal hubungan polimorfisme genotip dan alel terhadap kelompok penelitian serta analisis multivariat terhadap kelompok penelitian berdasarkan variabel kelompok umur, jenis kelamin, dan polimorfisme. Semua penderita menandatangani formulir persetujuan mengikuti penelitian setelah mendapat penjelasan, dan penelitian ini direkomendasi oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

HASIL

Diperoleh 98 subjek yang terdiri dari 49 subjek kelompok kasus (TBep) dan 49 subjek kelompok kontrol (TBp). Sebagai tambahan, diperoleh 31 subjek kelompok TB campuran (TBep+p). Jenis kelamin perempuan sedikit lebih tinggi dibanding laki-laki (Tabel 1) pada kelompok TBep (53,1% vs 46,9%), sedangkan pada kelompok TBp dan TBep+p jenis kelamin laki-laki lebih banyak yaitu (61,2%) dan (61,3%). Kasus TBep yang paling banyak adalah spondilitis TB (63,27%) dengan rerata usia $32,16 \pm 14,33$ tahun. Hasil uji homogenitas fenotip TB tersebut tidak berbeda bermakna pada kedua kelompok ($p>0,05$).

Tabel 1. Karakteristik Umum dan Uji Homogenitas TBep dan TBp

Variabel	TBep		TBp		P
	n	%	n	%	
Kelompok Umur					
≤60 tahun	4	95,9	47	95,9	1,000
>60 tahun	2	4,1	2	4,1	
Jenis Kelamin					
Laki-laki	2	46,9	30	61,2	0,156
Perempuan	2	53,1	19	38,8	

*Uji *Chi square*

Tabel 2. Distribusi Frekuensi Alel dan Genotip 1513A→C Gen P2X₇ pada Kelompok TBp dan TBep

Polimorfism gen P2X ₇	TBp		TBep		P	RO (IK 95%)
	n	%	n	%		
Alel						
Alel A	79	80,6	87	88,8	0,112	0,526 (0,236-1,173)
Alel C	19	19,4	11	11,2		
Genotip						
AA	30	61,2	38	77,6	0,080	0,457 (0,189-1,106)
AC	19	38,8	11	22,4		

*Uji *Chi square*, RO: Rasio Odd, IK: Interval Kepercayaan

Tabel 3. Distribusi Frekuensi Alel dan Genotip 1513A→C Gen P2X₇ pada Kelompok TBep+p dan TBp

Polimorfisme gen P2X ₇	TBp		TBep+p		P	RO (IK 95%)
	n	%	n	%		
Alel						
Alel A	79	80,6	51	82,3	0,795	0,897 (0,394-2,040)
Alel C	19	19,4	11	17,7		
Genotip						
AA	30	61,2	20	64,5	0,767	0,868 (0,341-2,209)
AC	19	38,8	11	35,5		

*Uji *Chi square*, RO: Rasio Odd, IK: Interval Kepercayaan

Pada 41 sampel penelitian yang mempunyai genotip AC, 26,8% pada TBep, 46,4% TBp, dan 26,8% TBep+p. Frekuensi alel C pada seluruh kelompok penelitian lebih sedikit dibanding alel A (15,89% vs 84,11%). Pada Tabel 2 terlihat bahwa distribusi frekuensi genotip AC ditemukan lebih banyak pada TBp dibanding TBep (38,8% vs 22,4%). Alel A lebih banyak dijumpai pada TBep dibanding TBp (88,8% vs 80,6%), sedang Alel C lebih sedikit dijumpai pada TBep dibanding TBp (11,22% vs 19,39%). Tidak ada perbedaan kerentanan TB klinik berdasarkan genotip dan alel 1513 A→C P2X₇ pada kedua kelompok (p 0,080 dan p 0,112).

Pada kelompok campuran TBep+p (Tabel 3), 35,5% memiliki genotip AC, demikian pula 38,8% pada kelompok TBp. Frekuensi alel C pada TBep+p dan TBp yaitu 17,74% vs 19,39%. Tidak ada perbedaan kerentanan TB klinik berdasarkan genotip dan alel pada kedua kelompok (p=0,767 dan p=0,795).

Tabel 4. Distribusi Alel dan Genotip 1513 A→C Gen P2X₇ pada Grup TBep Berat dan Ringan

Polimorfisme gen P2X ₇	Ringan		Berat		P	RO (95% IK)
	n	%	n	%		
Alel						
Alel A	31	91,2	56	87,5	0,583	1,476 (0,365-5,972)
Alel C	3	8,8	8	12,5		
Genotip						
AA	14	82,4	24	75	0,557	1,556 (0,354-6,844)
AC	3	17,6	8	25		

*Uji *Chi square*, RO: Rasio Odd, IK: Interval Kepercayaan
Berat: spondilitis TB dan TB usus; Ringan: TB Kelenjar dan TB sendi

Tabel 5. Analisis Multivariat TBep Berdasarkan Kelompok Umur, Jenis Kelamin, Polimorfisme 1513 A→C Gen P2X₇

Variabel	n	p	RO	95% IK
TBep Terhadap TBp				
Kelompok umur	98	0,775	1,348	0,174-10,463
Jenis Kelamin	98	0,125	1,904	0,836-4,337
Polimorfisme	98	0,082	2,188	0,904-5,293
TBep & TBep+p terhadap TBp				
Kelompok umur	80	0,700	0,715	0,129-3,957
Jenis Kelamin	80	0,268	1,514	0,726-3,157
Polimorfisme	80	0,184	1,670	0,784-3,553
Derajat klinis pada TBep				
Kelompok umur	49	0,999	0,000	0,000
Jenis Kelamin	49	0,310	0,535	0,160-1,789
Polimorfisme	49	0,382	0,505	0,109-2,337

*Uji *Chi square*, RO: Rasio Odd, IK: Interval Kepercayaan

Pada Tabel 4 terlihat bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna ($p=0,557$, RO 1,556 (0,354–6,844)) pada distribusi frekuensi genotip 1513 A→C antara kelompok TBep berat (25%) dengan TBep ringan (17,6%). Namun dari 11 sampel yang memiliki genotip AC, 72,73% diantaranya dijumpai pada TBep berat, demikian pula alel C lebih banyak dijumpai pada TBep berat dibanding TBep Ringan (12,5% vs 8,82%). Uji statistik terhadap alel pada kedua kelompok menunjukkan nilai p 0,583 dengan OR 1,476 (IK 95% 0,365-5,972). Tabel 5 menunjukkan variabel polimorfisme berkontribusi kecil, yaitu 2,188 kali terhadap kerentanan TBep dan 1,670 kali terhadap kerentanan TBep & TBep+p dibanding TBp.

PEMBAHASAN

Pada awal terjaring 114 sampel yang memenuhi kriteria inklusi, tetapi setelah dilakukan *matching* terhadap variabel umur dan jenis kelamin untuk meminimalkan bias, tersisa 98 sampel, 49 sampel TBep dan 49 sampel TBp serta sebagai tambahan terjaring 31 sampel TB campuran (TBep+p). Kesemua sampel pada penelitian ini telah mendapat terapi DOTS tahap awal (intensif) atau tahap lanjutan. Hal ini disadari dapat mempengaruhi fenotipe penderita TB. Rerata usia penderita TBep lebih muda dari penderita TBep+p (31,06±13,34 tahun vs 35,87±13,65 tahun) maupun TBp (36,37±12,71 tahun) dengan rentang usia keseluruhan 8-73 tahun. Angka tersebut menandakan bahwa kejadian TB tidak mengenal batasan usia, namun sebagian besar diderita oleh masyarakat yang berada dalam usia produktif (15–55 tahun).²⁴ Hal ini sedikit berbeda dengan penelitian Peto dkk yang menunjukkan rerata usia TBep 41 tahun dan TBp 47 tahun.²⁵ Demikian halnya, rerata usia TB pada penelitian *Liverpool cohort* sebesar 47,1±10,4 tahun, *Sydney cohort* 41,2±17,5 tahun.¹

Dari aspek jenis kelamin, frekuensi laki-laki dan perempuan ditemukan hampir berimbang pada TBep, sedangkan pada TBp maupun TBep+p, laki-laki dijumpai lebih banyak (61,2% dan 61,3%). Hal ini tidak berbeda jauh dari suatu penelitian dengan angka masing-masing 52,1% dan 65,3%.²⁵ Dari uji homogenitas, umur dan jenis kelamin pada kelompok kasus dan kontrol diperoleh $p>0,05$ yang berarti tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kedua aspek tersebut pada kedua kelompok. Akan tetapi, status gizi penderita yang juga merupakan salah satu risiko kejadian TB tidak diamati dalam penelitian ini dan menjadi faktor perancu. Malnutrisi (defisiensi makro dan mikronutrien) meningkatkan

risiko TB oleh karena mengganggu respons imun. Penyakit TB itu sendiri dapat membuat penderitanya malnutrisi karena menurunnya nafsu makan dan perubahan dalam proses metabolik. Melalui *The first National Health and Nutrition Examination* (NHANES-1) dan *The NHANES -1 Epidemiological Follow-up Study* (NHEFS) yang dilakukan tahun 1982 sampai 1984 pada warga Amerika dewasa dilaporkan peningkatan risiko TB enam sampai sepuluh kali lipat pada individu malnutrisi.²⁶

Pada penelitian ini distribusi frekuensi genotip 1513 A→C gen P2X₇ tidak berbeda bermakna antara kedua kelompok (TBep dibanding TBp) dengan p=0,080 dan RO 0,457 (IK95% 0,185–1,106) yang berarti polimorfisme 1513 A→C gen P2X₇ tidak berkontribusi dalam kerentanan TBep. Tidak ditemukannya genotip CC dalam penelitian ini kemungkinan berperan besar dalam mempengaruhi hasil penelitian, yang berarti bahwa kemampuan makrofag membunuh bakteri intraseluler tidak hilang 100%, sehingga masih sanggup menahan bakteri agar tidak menyebar ke ekstrapulmoner. Selain itu, faktor perancu penting yang luput dari kendali ialah tidak diamatinya status gizi penderita. Sebagaimana diketahui faktor ini sangat menentukan respons imun manusia.

Jika dianalisis secara multivariat, kontribusi variabel polimorfisme tampak lebih besar dibanding variabel umur dan jenis kelamin (RO 2,188 dan RO 1,67) pada kelompok TBep dan TBep+p dibanding TBp. Hal ini dapat diartikan bahwa ada kontribusi minimal polimorfisme 1513 A→C gen P2X₇ terhadap kerentanan TBep. Terdapat beberapa penelitian tentang kontribusi polimorfisme P2X₇ terhadap kerentanan maupun resistensi TB pada berbagai populasi di dunia. Penelitian di China mendapatkan polimorfisme 1513 A→C dan -762 T→C gen P2X₇ tidak berkaitan dengan kerentanan terhadap TBep pada populasi Chinese Han.¹⁴ Demikian pula, penelitian di India yang melaporkan polimorfisme 1513 A→C tidak berkaitan dengan kerentanan TBep.¹⁹ Namun penelitian pada populasi Asia Tenggara, Punjabi India Utara, dan Tunisia menyatakan bahwa polimorfisme gen 1513 A→C memiliki kontribusi yang kuat terhadap kerentanan TBep.^{1,9,20} Penelitian di Meksiko dan di Rusia, mendapatkan hal yang sebaliknya bahwa polimorfisme gen P2X₇ berhubungan dengan kerentanan terhadap TBp.^{8,12}

Penelitian metaanalisis menyimpulkan bahwa alel 1513 C P2X₇ berhubungan dengan kerentanan TB, sementara alel-762C tidak berkontribusi sebagai proteksi melawan infeksi TB.²¹ Keberagaman hasil yang diperoleh dari berbagai penelitian tersebut kemungkinan berkaitan dengan etnis populasi penelitian, besar sampel dan desain penelitian yang mungkin mempengaruhi kalkulasi statistik, serta faktor bahwa kerentanan terhadap TB bersifat poligenik.²⁰

Pada penelitian ini didapatkan frekuensi alel C secara keseluruhan lebih sedikit dibanding alel A, yaitu 15,89% vs 84,11% (tabel tidak ditampilkan). Frekuensi alel C pada TBep sebesar 11,2%, TBp 19,4% dan TBep+p 17,7% (Tabel 2 dan 3). Hal ini mirip dengan penelitian di Tunisia, yaitu 17,7% frekuensi alel C pada TBep dan 20% TBp.²⁰ Penelitian di India mendapatkan 21-26% alel C pada TBp.¹⁹

Pada Tabel 2 dan 3 terlihat bahwa polimorfisme 1513 A→C gen P2X₇ tidak berkontribusi terhadap kerentanan TBep, TBep+p dibanding TBp. Demikian pula pada analisis multivariat (Tabel 5), tidak terdapat hubungan bermakna antara variabel umur, jenis kelamin, dan polimorfisme kelompok TBep dengan TBp (p>0,05). Namun RO pada variabel polimorfisme terlihat lebih besar (RO 2,188) dibanding kedua variabel lainnya, yang berarti ada kontribusi minimal polimorfisme 1513 A→C gen P2X₇ terhadap kerentanan TBep.

Kontribusi polimorfisme 1513 A→C gen P2X₇ terhadap kerentanan TBep adalah sebagai berikut: setelah terhirup MTb, kontrol awal terhadap infeksi dilakukan oleh makrofag yang terdapat di alveoli yaitu melalui aktivasi reseptor P2X₇ akibat terikatnya ATP ekstraseluler. Jika terjadi polimorfisme 1513 A→C gen P2X₇, asam amino pada posisi 496 berubah dari asam glutamat menjadi alanin pada terminal C. Perubahan ini mengganggu fungsi P2X₇ dalam kemampuannya membunuh bakteri TB intraseluler sehingga memungkinkan terjadinya penyebaran infeksi ke arah ekstrapulmoner. Keadaan ini bisa berkembang menjadi *post primary TB disease* atau dikontrol oleh munculnya respons spesifik sel T.^{15,22} Selain polimorfisme pada gen P2X₇ terdapat juga polimorfisme pada Haplotipe HLA, polimorfisme pada gen reseptor vitamin D, SCL11A1, IFN- γ , dan *mannose binding lecting* (MBL) yang kesemuanya dikaitkan dengan kerentanan terhadap MTb. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa kontribusi polimorfisme terhadap kerentanan TB bersifat poligenik.¹

Pada penelitian ini tidak terjaring sampel meningitis TB disebabkan oleh karena pada umumnya kasus yang masuk RS sudah dalam keadaan umum jelek, sehingga tidak memungkinkan untuk dilakukan pengambilan cairan serebrospinal. Selain itu beberapa diantara penderitanya terdeteksi menderita HIV/AIDS. Menegakkan diagnosis TBep tidak selalu mudah, diperlukan indeks ketersangkaan yang tinggi melalui anamnesis yang cermat termasuk kemungkinan perilaku berisiko tinggi terhadap infeksi HIV.²⁷ Dari 49 penderita TBep, 36,7% penegakkan diagnosis melalui pemeriksaan abses vertebra dengan mesin *gene expert*, 36,7% melalui pemeriksaan massa kaseosa secara biopsi dan histopatologi, serta 26,6 % melalui data klinis. Sebanyak 32% subjek dengan spondilitis TB ditemukan defisit neurologis berupa gangguan motorik dan atau sensoris, serta gangguan susunan saraf otonom berupa retensio urin.

Berdasarkan data epidemiologi, jumlah kasus TBep pada penderita HIV negatif sebanyak 15-20% dari semua kasus, dengan kasus terbanyak adalah limfadenitis TB (35%). Pada penderita HIV positif jumlah kasus TBep mencapai lebih dari 50% diantara kasus TB dengan limfadenitis tetap yang terbanyak (35%).⁹ Berbeda dengan penelitian ini, didapatkan jenis TBep terbanyak ialah spondilitis TB (63,26%) disusul limfadenitis TB (30,61%). Perbedaan tersebut disebabkan oleh karena sumber pengambilan sampel TBep kebanyakan berasal dari Departemen Saraf dan Bedah Ortopedi, tidak mencakup kasus yang datang berkonsultasi ke bagian Ilmu Kesehatan Anak, Telinga Hidung, dan Tenggorokan (THT) maupun bagian Bedah Onkologi. Perihal TB campuran, peneliti Korea menghimbau klinisi agar waspada akan bermanifestasinya TBep pada penderita TBp bilateral, tanpa gambaran kavitas atau yang kadar serum albuminnya rendah.²⁸ Pada penelitian ini 44,9% diantara sampel TBp menunjukkan kelainan pulmoner dupleks yang menurut suatu penelitian penderita-penderita ini berisiko alami penyebaran ekstrapulmoner di kemudian hari.²⁹ Konsumsi DOTS sesuai protokol diharapkan dapat mencegah penyebaran ini.^{30,31}

Keterbatasan dalam penelitian ini ialah terutama dalam hal ketepatan diagnosis TBep dimana masih terdapat sejumlah sampel yang penegakkan diagnosis hanya berdasarkan temuan klinis dan radiologis saja. Pemeriksaan histopatologis tidak dilakukan pada semua sampel penelitian, hanya dilakukan pada kasus TB kelenjar, TB usus, dan TB sendi.

KESIMPULAN

Artikel Penelitian

Kontribusi polimorfisme 1513 A→C gen P2X₇ berperan kecil terhadap kerentanan TBep. Mengingat kontribusi polimorfisme gen terhadap kerentanan TB bersifat poligenik, maka diperlukan penelitian lanjutan dengan desain penelitian kohort melibatkan gen lainnya, dengan jumlah sampel yang lebih besar, mempertimbangkan faktor risiko lainnya, serta melibatkan individu sehat. Sumber daya dan sarana diagnostik TB perlu senantiasa dimutakhirkan untuk diagnosis yang lebih akurat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Fernando SL, Saunders BM, Sluyter R, Skarratt KK, Goldberg H, Marks GB, dkk. A polymorphism in the P2X₇ gene increases susceptibility to extrapulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;175:360-366.
2. Takahashi T, Tamura M, Takasu T. Review article: the PCR-based diagnosis of central nervous system tuberculosis: Up to date. *Tuberculosis Res and Treat*. 2012:Article ID 831292.
3. Bellamy R. Genetics and pulmonary medicine: Genetic susceptibility to tuberculosis in human populations. *Thorax*. 1998;53:588-593.
4. Ahmad S. Pathogenesis, immunology, and diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Clin Dev Immunol*. 2011;1:1-17.
5. Arulkumaran N, Unwin RJ, Tam FWK. A potential therapeutic role for P2X₇ receptor (P2X₇R) antagonists in the treatment of inflammatory diseases. *Expert Opin Investig Drugs*. 2011;20(7):897-915.
6. Chan J, Flynn JA. The immunological aspects of latency in tuberculosis. *Clin Immunol*. 2004;110:2-12.
7. Azad AK, Sadee W, Schlesinger. Innate immune gene polymorphism in tuberculosis. *Infect immun*. 2012;80(10):3343-59.
8. Mokrousov I, Sapozhnikova N, Narvskaya O. *Mycobacterium tuberculosis* co-existence with humans: making an imprint on the macrophage P2X₇ receptor gene? *J Med Microbiol*. 2008;57:581-584.
9. Sharma S, Kumar V, Khosia R, Kajal N, Sehajpal SP. Association of P2X₇ receptor +1513 (A→C) polymorphism with tuberculosis in a Punjabi population. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2010;1(9):1159-63.
10. Caws M, Thwaites G, Dunstan S, Hawn TR, Lan NTN, Thuong NTT, dkk. The influence of host and bacterial and genotype on the development of disseminated disease with *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS Pathog*. 2008;4(3):e1000034.
11. Png E, Alisjahbana B, Sahiratmadja E, Marzuki S, Nelwan R, Balabanova Y, dkk. A genome wide association study of pulmonary tuberculosis susceptibility in Indonesians. *BMC Med Genet*. 2012;13(5):1-9.
12. Nino-Moreno P, Portales-Prez D, Hernandez-Castro L, Flores-Merez V, Baranda L, Gomez-Gomez V, dkk. P2X₇ and NRAMP 1/SLC11 A1 gene polymorphisms in Mexican mestizo patients with pulmonary tuberculosis. *Clin Exp Immunol*. 2007;148:469-77.
13. Li CM, Campbell SJ, Kumararatne DS, Bellamy R, Ruwende C, McAdam KPWJ, dkk. Association of a polymorphism in the P2X₇ gene with tuberculosis in a Gambian population. *J Infect Dis*. 2002;186:1458-62.
14. Xiao J, Sun L, Jiao W, Li Z, Zhao S, Li H, dkk. Lack of association between polymorphisms in the P2X₇ gene and tuberculosis in a Chinese Han population. *FEMS immunol Med Microbiol*. 2009;55:107-11.
15. North RA. Molecular physiology of P2X Receptors. *Physiol Rev*. 2002;82:1013-67.
16. Gu BJ, Zhang W, Wprthington RA, Sluyter R, Dao-Ung P, Petru S, dkk. A Glu-496 to ala polymorphism leads to loss of function of the Human P2X₇ reseptor. *J Biol Chemist*. 2001;276(14):11135-42.
17. Fernando SL, Saunders BM, Sluyter R, Skarratt KK, Wiley JS, Britton WJ. Gene dosage dermines the negative effects of polymorphic alleles of the P2X₇ receptor on adenosine triphosphate-mediated killing of mycobacteria by human macrophages. *J Infect Dis*. 2005;192:149-55.
18. [Nejentsev S](#), [Thye T](#), [Szeszko JS](#), [Stevens H](#), [Balabanova Y](#), [Chinbuah AM](#), dkk. Analysis of association of the TIRAP (MAL) S180L variant and tuberculosis in three populations. [Nat Genet](#). 2008;40(3):261-2; author reply 262-3.
19. Singla N, Gupta D, Joshi A, Batra N, Singh J. Genetic polymorphism in the P2X₇ gene and its association with susceptibility to tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2011;16(2):224-229.

Artikel Penelitian

20. Selma W, Kahla I, Boukadida J, Harizi H. Contribution of the P2X7 1513 A/C loss-of-function polymorphism to extrapulmonary tuberculosis susceptibility in Tunisian populations. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2011;63:65-72.
21. Xiao J, Sun L, Yan H, Jiao W, Miao Q, Feng W, dkk. Metaanalysis of P2X7 gene polymorphisms and tuberculosis susceptibility. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2010;60:165-70.
22. Flynn JL, Chan J. Immune evasion by *Mycobacterium tuberculosis*: living with the enemy. *Curr Opin Immunol*. 2003;15:450-55.
23. Pai M, Minion J, Steingart K, Ramsay A. New and improved tuberculosis diagnostics: evidence, policy, practice, and impact. *Curr Opin Pulm Med*. 2012;16:1-12.
24. Saptawati L, Mardiasuti, Karuniawati A, Rumende CM. Evaluasi metode *fast plaque TBsm* untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada sputum di beberapa unit pelayanan kesehatan di Jakarta-Indonesia. *Jurnal Tuberkulosis Indonesia*. 2012;8:1-5.
25. Peto HM, Pratt RH, Harrington TA, LoBue PA, Amstrong LR. Epidemiology of extrapulmonary tuberculosis in the United States, 1993-2006. *CID*. 2009;49(1):1350-6.
26. Narasimhan P, Wood J, Macintyre CR, Mathai D. Risk factor for tuberculosis. *Pulmonary Medicine*. 2013:1-7.
27. Golden MP, Vikram HR. Extrapulmonary tuberculosis: an overview. *American Family Physician*. 2005;72(9):1761-7.
28. Kim MJ, Kim HR, Hwang SS, kim YW, Han SK, Shim YS, dkk. Prevalence and its predictors of entrapulmonary involment in patient with pulmonary tuberculosis. *J Korean Med Sci*. 2009;24: 237-41.
29. Garcia-Rodriguez JF, Alvarez-Diaz H, Lorenzo-Garcia MV, Marino-Callejo A, Fernandez-Rial A, Selma-Sanchez P. Extrapulmonary tuberculosis: epidemiology and risk factors. *Enferm infecc Microbiol Clin*. 2011;531:1-8.
30. Kemenkes. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia nomor 364/MENKES/SK/V/2009 tentang Pedoman Penanggulangan Tuberkulosis (TB) Menteri Kesehatan Republik Indonesia.
31. Depkes. Pedoman nasional penanggulangan tuberkulosis. Edisi ke-2. Jakarta; 2007.