

Polimorfisme Gen Leptin -2548G>A (Rs7799039) Pada Penderita Diabetes Mellitus Tipe 2

Edwin Lewis¹, Yetty Machrina²

¹Student of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine, Universitas Sumatera Utara

²Departement of Physiology of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine, Universitas Sumatera Utara, Jl. Dr. T. Mansur no.9 Kampus USU, Medan, 20155, Indonesia

*Corresponding Author : edwinlewis764@gmail.com

Abstrak

Diabetes Mellitus Tipe 2 merupakan penyakit metabolik dengan penyebab multifaktorial dari akibat pengaruh lingkungan berupa gaya hidup, pola makan yang salah, kurangnya berolahraga, pekerjaan dan baru-baru ini ditemukan adanya variasi gen atau polimorfisme gen yang bertanggung-jawab dalam peningkatan faktor resiko terjadinya Diabetes Mellitus Tipe 2 yaitu polimorfisme gen leptin -2548G>A (rs7799039). Tujuan literature review ini untuk mengetahui polimorfisme gen leptin -2548G>A (rs7799039) pada penderita diabetes mellitus tipe 2. Metode yang digunakan adalah metode electronical database yaitu pencarian jurnal menggunakan Google scholar, Research gate, Science direct, Pubmed pada 5 tahun terakhir dari tahun 2018 sampai tahun 2023 dengan kata kunci bahasa Indonesia diabetes mellitus tipe 2, gen leptin -2548G>A, polimorfisme, teknik PCR-RFLP. Dari pencarian jurnal didapati ada 6 artikel yang sesuai dengan tujuan literature review dan memenuhi kriteria inklusi yaitu penderita DM tipe 2 terkontrol, berumur 35-60 tahun, tanpa komplikasi. Untuk menganalisa polimorfisme gen leptin -2548G>A digunakan teknik PCR-RFLP. Hasil: adanya polimorfisme gen leptin -2548G>A pada penderita diabetes mellitus tipe 2 dimana allele A yang terdapat pada genotype AA dan GA dihubungkan dengan terjadinya polimorfisme gen leptin -2548G>A pada penderita diabetes. Diskusi: kami menemukan adanya artikel yang menyatakan tidak adanya hubungan yang signifikan polimorfisme gen leptin -2548G>A pada penderita diabetes yang disebabkan adanya perbedaan etnis atau ras yang diperiksa. Perlu adanya penelitian pada populasi masyarakat yang lebih luas dengan banyak sampel penderita diabetes.

Kata kunci : diabetes mellitus tipe 2, gen leptin -2548G>A, polimorfisme, teknik PCR-RFLP

Polymorphism of the Leptin Gene -2548G>A (Rs7799039) In Type 2 Diabetes Mellitus Patients

Abstract

Diabetes Mellitus Type 2 is a metabolic disease with multifactorial causes as a result of environmental influences in the form of lifestyle, wrong diet, lack of exercise, work and recently it was found that there are gene variations or gene polymorphisms that are responsible for increasing the risk factors for Diabetes Mellitus Type 2 is the leptin gene polymorphism -2548G>A (rs7799039). The purpose of this literature review is to determine the leptin gene polymorphism -2548G>A (rs7799039) in patients with type 2 diabetes mellitus. The method used is the electronic database method, namely searching journals using Google Scholar, Research gate, Science direct, Pubmed in the last 5 years of 2018 to 2023 with Indonesian keywords type 2 diabetes mellitus, leptin gene -2548G>A, polymorphism, PCR-RFLP technique. From the search for journals, it was found that 6 articles fit the purpose of the literature review and met the inclusion criteria, namely people with type 2 DM controlled, aged 35-60 years, without complications. The PCR-RFLP technique was used to analyze the leptin gene polymorphism -2548G>A. Results: The existence of a leptin gene polymorphism -2548G>A in type 2 diabetes mellitus patients where the allele A present in the AA and GA genotypes is associated with the occurrence of leptin gene polymorphism -2548G>A in diabetics. Discussion: We found articles stating no significant association between the leptin -2548G>A gene polymorphism in diabetics due to differences in ethnicity or race being examined. There is a need for research in a wider community with a large sample of diabetics.

Keywords: type 2 diabetes mellitus, leptin gene -2548G>A, polymorphism, PCR-RFLP technique

Pendahuluan

Diabetes mellitus (DM) merupakan kelompok penyakit metabolik kronis yang ditandai dengan terjadinya hiperglikemia akibat pankreas tidak menghasilkan cukup insulin atau ketika tubuh tidak dapat secara efektif menggunakan insulin yang dihasilkan (1). Diperkirakan sedikitnya 463 juta orang pada usia 20-79 tahun di dunia menderita diabetes pada tahun 2019 dan Indonesia berada di urutan ke-7 dari 10 negara dengan jumlah penderita diabetes berdasarkan data International Diabetes Federation (IDF) 2019 dengan jumlah 10,7 juta orang dan diperkirakan akan terus meningkat (2). Berdasarkan laporan tahunan Dinas Kesehatan Provinsi Sumatera Utara, Kota Medan merupakan wilayah dengan jumlah penderita diabetes terbanyak sekitar 95.240 orang penderita ditahun 2019 (3).

Pada penderita diabetes mellitus tipe 2 terjadi hiperinsulinemia dimana insulin tidak bisa atau turunnya kemampuan insulin merangsang pengambilan glukosa dan membawa glukosa masuk kedalam jaringan perifer karena terjadi resistensi insulin. Glukosa yang seharusnya diubah menjadi energi apabila berlebih akan diubah menjadi lemak. Glukosa yang semakin banyak akan merangsang pankreas menghasilkan lebih banyak lagi insulin sehingga akan semakin banyak lagi lemak yang terbentuk (4). Kondisi tubuh yang menghasilkan insulin yang banyak menyebabkan tubuh tidak lagi merespon konsentrasi leptin yang dikeluarkan oleh jaringan adiposa. Hal ini mengakibatkan terhambatnya kinerja leptin menghantarkan sinyal kenyang ke otak karena sel tubuh tidak menerima glukosa sehingga tubuh menganggap masih butuh energi dan terus merasakan lapar (5).

Leptin suatu protein 16 kDa adalah hormon endokrin dan bagian dari sitokin helix rantai panjang. Terdiri dari 164 asam amino dan sebagian besar diproduksi oleh jaringan adiposa putih (white adiposa). Gen leptin terletak di lokasi kromosom 7q31.3 termasuk 3 intron dan 3 exon dengan panjang 18kb (6). Kadar leptin dalam darah menggambarkan jumlah simpanan lemak trigliserida di jaringan lemak. Semakin banyak cadangan lemak maka semakin banyak leptin yang dilepaskan ke dalam darah. Reseptor leptin dijumpai dalam jumlah banyak di hipotalamus ventromedial yang merupakan pusat kenyang. Leptin membantu meregulasi kebiasaan makan melalui mekanisme neuroendokrin sentral dengan mengirimkan sinyal kenyang dengan cara berikatan dengan reseptor neural di hipotalamus ventromedial dengan melakukan upregulating peptide anoreksigenik yang dapat menginhibisi nafsu makan (7).

Polimorfisme adalah sebuah variasi sekuens/urutan DNA yang dapat terjadi pada sebuah populasi dengan frekuensi sebanyak 1% atau lebih. Varian dari promoter leptin -

2548G>A (rs7799039) terjadi pertukaran atau substitusi guanin ke adenin pada posisi nukleotida -2548 upstream dari ATG start site (8). Dan menurut penelitian yang merupakan artikel-artikel dalam literature review ini diyakini bahwa polimorfisme leptin -2548G>A ini secara langsung mempengaruhi tingkat transkripsi oleh jaringan adiposa dan berhubungan dengan patofisiologi diabetes dan komplikasi terkait.

Adanya kecenderungan peningkatan prevalensi diabetes dari tahun ke tahun membuat para peneliti ingin melakukan penelitian lebih mendalam lagi tentang kaitannya polimorfisme gen leptin -2548G>A (rs7799039) pada penderita DM tipe 2 tetapi penelitian ini memerlukan sampel yang besar meliputi satu populasi masyarakat yang besar dan pastinya memerlukan biaya yang tidak sedikit.

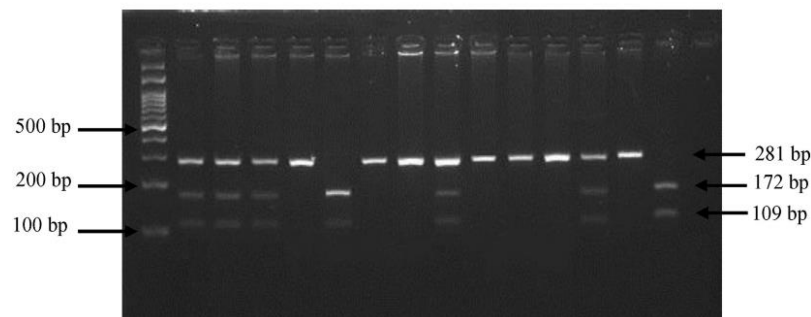
Metode

Metode yang digunakan oleh penulis adalah studi literatur dari berbagai jurnal internasional dari tahun 2018-2023 yang menulis tentang adanya polimorfisme gen leptin -2548G>A (rs7799039) pada penderita DM tipe 2 dalam satu populasi masyarakat tertentu dalam suatu negara. Para peneliti ini menggunakan metode deskriptif kuantitatif dengan desain crosssectional dimana pengamatan dan pengukuran subjek penelitian dilakukan secara bersamaan dalam satu waktu tertentu.

Hasil penelitian

Dari artikel-artikel dalam literature review didapati cara menganalisa polimorfisme gen leptin -2548G>A yang sama dengan cara yang berikut ini. Tiga ml darah diambil dari vena lengan atas pasien dengan puasa 10 jam, dimasukan kedalam tabung EDTA untuk diekstraksi DNA. Untuk menganalisa polimorfisme gen leptin -2548G>A digunakan teknik PCR_RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism assay). Master mix PCR dicampur dengan primer reverse 5'-AAAGCAAAGACAGGCATAAAAA-3'(anti sense), primer forward 5'TTTCCTGAATTTTCCCGTGAG-3' (sense), nuclease free water dan template DNA kemudian dimasukkan kedalam alat thermal cycler dengan kondisi hot start pada suhu 95°C selama 5 menit sebanyak 1 putaran diikuti denaturasi pada suhu 94°C selama 15 detik, annealing pada suhu 52°C selama 30 detik, ekstensi pada suhu 72°C selama 30 detik masing-masing 35 putaran dan final ekstensi pada suhu 72°C selama 5 menit sebanyak 1 putaran. Produk DNA teramplifikasi dicampur dengan 2 U enzim restriksi HhaI dan diverifikasi menggunakan gel Agarose 0,8% dengan 0,5 gr/ml Ethidium bromide dalam

buffer TAE selama 90 menit. Kemurnian DNA didokumentasi dengan alat gel Documentation System. Setelah dianalisa pada alat gel documentation system didapati allele G dan allele A sehingga polimorfisme gen leptin -2548G>A menghasilkan 3 genotip yaitu genotip GG homozygous wild type, genotip AA homozygous mutant dan genotip GA heterozygous. Dalam artikel-artikel yang menjadi rujukan literature review ini didapati kadar serum leptin dari allele A pada genotip AA+GA lebih tinggi secara signifikan dari genotip GG pada penderita diabetes (9).



Gambar 1. Pemeriksaan elektroforesis 2548G>A pada gel agarosa 3%. L adalah ladder DNA 100 bp. GA (281, 172, 109 bp) menunjukkan heterozigot. AA (172, 109bp) menunjukkan homozigot. GG (281 bp) menunjukkan wild type.

Dalam artikel polimorfisme gen leptin -2548G>A pada penderita DM tipe 2 Malaysia didapati dari 150 penderita diabetes terdapat genotip GG=51 orang (34%), genotip AA=25 orang (16,66%) dan genotip GA=74 orang (49,34%). Ini memperlihatkan polimorfisme gen leptin -2548G>A sangat terkait dengan diabetes mellitus tipe 2 yang mana bila digabung penderita diabetes yang genotip AA+GA mencapai 99 orang (66%) dan memberikan arti bahwa allele A pada genotip AA+GA adalah petunjuk penting dalam peningkatan kadar leptin darah (10). Pada 62 orang penderita diabetes di Kota Erbi, Irak didapat genotip GG= 12 orang (19,4%), genotip AA=29 orang (46,7%) dan genotip GA=21 orang (33,9%) sehingga total penderita diabetes yang bergenotip AA+GA mencapai 60 orang (80,6%) dan ini memberi arti bahwa adanya polimorfisme gen leptin -2548G>A pada penderita diabetes dimana allele A dalam genotip AA+GA mempengaruhi transkripsi gen leptin dan banyak berperan dalam patogenesis terjadinya penyakit diabetes (11).

Pada penderita diabetes mellitus tipe 2 yang dianalisa gen leptin -2548GA di provinsi Kashmir, India berjumlah 390 orang didapati penderita diabetes yang mempunyai genotip GG = 118 orang (30,2%), genotip AA = 200 orang (51,3%) dan genotip GA =72 orang (18,5%) dan bila digabung genotip AA+GA maka akan berjumlah 272 orang atau 69,8%. Ini memberikan gambaran adanya hubungan yang signifikan polimorfisme gen leptin -2548G>A dan mempunyai peran penting dalam perkembangan patogenesis diabetes mellitus tipe 2 (12).

Dalam penelitian pada populasi etnis Punjab yang menderita diabetes mellitus tipe 2 di India Utara, dari 417 penderita diabetes yang dianalisa gen leptin 2548G>A ditemukan masih belum jelas hubungan antara polimorfisme gen leptin -2548G>A dengan penderita diabetes. Didapati penderita diabetes dengan genotip GG=251 orang (60,2%), genotip GA=120 orang (28,8%) dan genotip AA=46 orang (11%) yang bila dijumlah antara genotip GG sekitar 251 orang (60,2%) dibandingkan genotip AA+GA yang hanya 166 orang atau 39,8% (13).

Dalam artikel analisa polimorfisme gen leptin -2548G>A pada populasi etnis Kashmir, India, dari 200 orang penderita diabetes mellitus tipe 2 diperoleh hasil penderita diabetes yang mempunyai genotip GG=160 orang (80%), genotip AA= 14 orang (10%) dan GA= 26 orang (20%). Bila diperhatikan total allele A pada genotip AA+GA berjumlah 40 orang (20 %) menunjukkan bahwa masih belum jelas hubungan polimorfisme gen leptin -2548G>A dengan perkembangan patogenesis DM tipe 2 (14). Begitu juga pada artikel analisa polimorfisme gen leptin -2548G>A pada masyarakat Irak, dari 150 orang penderita diabetes yang dianalisa gen leptin -2548G>A didapati yang mempunyai genotip GG=87 orang (58%), genotip AA=12 orang (8%) dan GA=51 orang (34%) dimana bila ditotal jumlah allele A pada genotip AA+GA ada sebanyak 63 orang atau 42% dan kesimpulannya tidak ada hubungan polimorfisme gen leptin -2548G>A dengan perkembangan penyakit diabetes mellitus tipe 2 (15).

Pembahasan

Dari hasil penelitian keenam jurnal internasional itu didapati bahwa ada 3 jurnal yang menyatakan bahwa allele A pada genotip AA+GA pada penderita diabetes mellitus tipe 2 merupakan suatu varian gen atau polimorfisme pada promotor gen leptin -2548G>A, sedangkan 3 jurnal yang lain tidak adanya polimorfisme gen leptin -2548G>A pada penderita diabetes mellitus tipe 2. Dalam jurnal juga disebutkan bahwa kemungkinan penyebab tidak adanya polimorfisme gen leptin -2548G>A pada penderita diabetes tipe 2 pada suatu populasi tertentu disebabkan adanya perkawinan campuran antar ras sehingga genotip pada setiap orang dalam istilahnya “tidak murni” lagi dan tidak tertutup kemungkinan faktor makanan seperti sekarang banyak makan makanan atau minuman “junk food”, lingkungan tempat tinggal termasuk stres pekerjaan dan kurangnya berolahraga yang berlangsung lama bahkan sampai berganti generasi ke generasi berikutnya menjadi penyebabnya.

Kesimpulan dan saran

Untuk hasil penelitian yang lebih akurat dan baik kedepannya diperlukan penelitian dengan jumlah sampel penderita diabetes yang lebih banyak lagi dan dari genotip yang “murni” dalam artian tidak ada perkawinan campur dari suatu ras atau suku dalam satu populasi walaupun itu memerlukan biaya yang tidak sedikit.

Referensi

1. Soelistijo Soebagijo Adi et all. Pengelolaan Dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 Dewasa di Indonesia. 1st; Desembe ed. Perkeni. PB PERKENI; 2019. 133 p.
2. Kemenkes. Infodatin tetap produktif, cegah, dan atasi Diabetes Melitus 2020. Pusat Data dan Informasi Kementrian Kesehatan RI. 2020. p. 1–10.
3. Dinas Kesehatan Provinsi Sumatera Utara. Provinsi Sumatera Utara. Dinas Kesehatan Provinsi Sumatera Utara. 2019.
4. A Kakade A, R Mohanty I, Rai S. Assessment of factors associated with poor glycemic control among patients with Type II Diabetes mellitus. *Integr Obes Diabetes*. 2018;4(3):1–6.
5. Wake AD. Antidiabetic effects of physical activity: How it helps to control type 2 diabetes. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2020;13:2909–23.
6. Sabi EM, Bin Dahman LS, Mohammed AK, Sumaily KM, Al-Daghri NM. -2548G>A LEP Polymorphism Is Positively Associated with Increased Leptin and Glucose Levels in Obese Saudi Patients Irrespective of Blood Pressure Status. *Medicina (Lithuania)*. 2022;58(3).
7. Facey A, D L, Rachel I. A Review of The Leptin Hormone and The Association with Obesity and Diabetes Mellitus. *J Diabetes Metab*. 2017;
8. Wati CA. Peran Leptin Terhadap Tes Toleransi Glukosa Oral pada Penderita DM Tipe 2. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*. 2020;12(2):753–60.
9. Kargasheh FB, Ansaripour S, Borumandnia N, Moradi N, Zandieh Z, Maleki M, et al. Association of leptin G2548A and leptin receptor Q223R polymorphisms and their serum levels with infertility and recurrent pregnancy loss in Iranian women with polycystic ovary syndrome. *PLoS One [Internet]*. 2021;16(8 August):1–13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0255920>
10. Ali LA, Jemon K, Ab Latif N, Abu Bakar S, Syed Alwi SS. LEP G2548A polymorphism is associated with increased serum leptin and insulin resistance among T2DM Malaysian patients. *BioMedicine (Taiwan)*. 2022;12(3):31–9.
11. H Abdullah G. Association of Leptin Promoter 2548G/A variant with Serum Leptin, Lipid Profile and Type 2 Diabetes Mellitus. *Diyala Journal of Medicine*. 2020;19(1):60–7.
12. Ashraf R, Khan MS, Lone SS, Bhat MH, Rashid S, Majid S, et al. Implication of Leptin and Leptin Receptor Gene Variations in Type 2 Diabetes Mellitus: A Case-Control Study. *J Endocrinol Metab [Internet]*. 2022;12(1):19–31. Available from: <https://www.doi.org/10.14740/jem785>

13. Bains V. Association analysis of polymorphisms in LEP (rs7799039 and rs2167270) and LEPR (rs1137101) gene towards the development of type 2 diabetes in North Indian Punjabi population. Available from:
<https://www.sciencedirect.com/getaccess/pii/S0378111920305151/purchase>
14. Dar R, Rasool S, Waza AA, Ayoub G, Qureshi M, Zargar AH, et al. Polymorphic analysis of leptin promoter in obese/diabetic subjects in Kashmiri population. *Indian J Endocrinol Metab.* 2019;23(1):111–6.
15. Amhe NH, Al-Fahdawi FHZ, Gheisarzadeh A, Hatamnia AA. The Polymorphism Study of LEP and LEPR Genes in Association of its Serum Level in Iraqi Patients with Type 2 Diabetic. *Pakistan Journal of Medical and Health Sciences.* 2022;16(4):926–9.