

Diagnostik molekuler pada endokrinologi reproduksi

Tri Hanggono Achmad

Bagian Biokimia, Fakultas Kedokteran – Universitas Padjadjaran

Dipresentasikan pada :

Kursus Pencitraan Laboratorium

Imunoneuroendokrin Biomolekuler Endokrinologi Reproduksi

dalam rangka

Pertemuan Ilmiah Tahunan XIV

Perhimpunan Obstetri & Ginekologi Indonesia

Bandung, 11 – 15 Juli 2004

Diagnostik molekuler pada endokrinologi reproduksi

Tri Hanggono Achmad

Bagian Biokimia, Fakultas Kedokteran – Universitas Padjadjaran

Abstrak

Penyakit sistem endokrin, yang umumnya disebabkan kelebihan atau kekurangan produksi hormon, merupakan contoh baik untuk menerapkan ilmu kedokteran dasar di tingkat molekuler kedalam klinik. Deteksi mutasi gen dan menghubungkannya dengan berbagai penyakit merupakan jantung dari ledakan informasi saat ini dalam dunia kedokteran dan banyak aplikasi dalam diagnosis molekuler. Diagnosis molekuler memiliki potensi untuk meningkatkan peran pemeriksaan laboratorium dalam menegakkan diagnosis penyakit.

Hormon steroid memiliki perjalanan yang bervariasi dalam waktu hidupnya yang singkat, sehingga dapat dimengerti bahwa pendekatan molekuler dalam diagnosis berbagai kelainan endokrinologi sistem reproduksi akan menjadi sangat kompleks.

Berkembangnya berbagai pemeriksaan laboratorium penunjang yang canggih telah mendorong klinisi banyak bergantung padanya. Berbagai pemeriksaan ini tidak akan dapat menggantikan penilaian klinis yang baik yang menggunakan semua informasi yang tersedia dalam membuat keputusan klinis. Penting untuk diingat bahwa berbagai pemeriksaan molekuler tampaknya tidak akan segera dapat menggantikan alat bantu diagnostik konvensional selama ini. Tingginya harga dan kompleksitas dari teknologi molekuler cenderung membatasi aplikasi klinisnya, meskipun informasi yang diberikan tidak dapat diperoleh dari metode diagnostik konvensional lain. Berkembangnya otomatisasi dan komersialisasi dari metode molekuler yang dirancang akan dapat menurunkan biaya, mengurangi tingginya kebutuhan tingkat keahlian, dan akan menghasilkan terintegrasinya teknologi diagnostik molekuler kedalam praktek klinik.

Molecular diagnosis in reproductive endocrinology

Tri Hanggono Achmad

Department of Biochemistry, Faculty of Medicine – Universitas Padjadjaran

Abstract

Endocrine disease, which is generally caused by increased or decreased hormone production, is a good example case to explain clinical case in molecular level. Detection of gene mutation and its relation to various diseases is the heart of information explosion nowadays in medicine implemented in molecular diagnosis.

Steroid hormone has various pathways with short half life. Hence it is clear the complexity of molecular approach in various endocrine disturbances in reproductive system.

The advancement of sophisticated diagnostic laboratory procedure leads to the dependency of many clinicians on it, even though it cannot replace the capacity of good medical practice. Molecular diagnostic procedure will not take place the conventional technique in the near future, due to the high cost and complexity of its method. Automation and commercialization of molecular method which designed to lower cost and need on high expertise could in the future integrate molecular diagnostic technology into clinical practice.

Diagnostik molekuler pada endokrinologi reproduksi

Tri Hanggono Achmad

Bagian Biokimia, Fakultas Kedokteran – Universitas Padjadjaran

Pendahuluan

Ilmu kedokteran telah mengalami kemajuan yang luar biasa pada setengah abad terakhir ini. Periode 100 tahun dari 1850 hingga 1950 ditandai dengan penemuan penting dari penicillin, sulfinamide dan insulin, diterapkannya pemeriksaan-pemeriksaan kimiawi dan fisik terhadap material biologis, seperti pemeriksaan darah dan urin, atau pemeriksaan sinar-X dan tekanan darah, dan penggunaan empiris bahan kimia untuk pengobatan dalam kedokteran. Milenium ini memunculkan dua perkembangan yang berpengaruh kuat terhadap pemahaman ilmu biologi sel di tingkat molekuler, yaitu **genomics**, yang memaparkan urutan lengkap dari DNA pada banyak organisme, dan **proteonomics**, pengetahuan dari semua kemungkinan struktur dan fungsi yang dimiliki protein. Sejak tahun 1995 banyak perkembangan yang menonjol di bidang biologi molekuler telah terjadi. Diawali dengan keberhasilan memaparkan urutan genome jamur, nematoda hingga berbagai spesies bakteri, kini seluruh urutan 3 miliar pasangan basa dari genome manusia yang mengkode kurang lebih 70.000 protein telah juga teridentifikasi. Bagaimana informasi ini bisa disimpan ? Dengan berkembangnya secara cepat ilmu dan teknologi computer, suatu cabang ilmu **bioinformatika** telah berkembang yang memfokuskan diri pada pengetahuan untuk mengumpulkan, menata, dan menganalisis urutan DNA dan protein. Kini ekspresi yang bersamaan dari ribuan gena dapat dianalisis menggunakan *DNA "chip" microarray technology* yang baru dikembangkan, yang akan meningkatkan pengertian kita tentang kontrol genetik pada perkembangan penyakit dan keadaan sakit. Sintesis makromolekul kini diketahui memerlukan banyak sekali piranti multiprotein. Struktur yang detail dari ribosom telah meningkatkan pemahaman kita terhadap langkah-langkah pembentukan ikatan peptida, dan kini kita dapat mengerti bahwa banyak dari protein yang terlibat dan mengatur langkah-langkah replikasi DNA, dan sintesis *messenger RNA*. Kini semakin dalam dimengerti bagaimana struktur kromatin dimodifikasi oleh asetilasi dari histon untuk meregulasi ekspresi gen, dan bagaimana holoenzim RNA polymerase II berhubungan dengan aktivator dan koaktivator untuk mengatur transkripsi. *Chromosome*

painting menggunakan *fluorescent in situ hybridization (FISH)*, memungkinkan dibedakannya setiap kromosom manusia secara jelas pada pemisahan metafase berdasarkan perbedaan ukuran dan warna. Metode ini meningkatkan secara bermakna sensitifitas deteksi translokasi kromosom pada sel-sel kanker.

Kini ilmu kedokteran lebih dari sekedar intuisi dan "*common sense*". Ilmu kedokteran adalah ketepatan yang didasarkan pada perbaikan pemahaman penyakit dalam terminologi yang spesifik yang berkembang lebih dari satu abad. Kini kita mengalami masa emas pada perjalanan yang lebih cepat; penemuan antibiotika 60 tahun lalu, pemahaman imunologi pada tahapan molekuler pada 30 tahun terakhir; dan kini genetika, tidak hanya pengetahuan di tingkat molekuler, namun pemahaman tentang bagaimana memanipulasi gena untuk keuntungan kesejahteraan manusia. Kita kini berada pada era kedokteran biofisik-molekuler, suatu pengaruh yang meleburkan dan menyatukan bagian-bagian tradisional dari kedokteran. Apakah seseorang berbicara tentang gangguan metabolisme bawaan, neurotransmitter, sitokin, onkogen, atau regulasi hormon, semua dibicarakan secara terperinci, jelas dan komprehensif pada tingkat molekuler.

Dasar diagnosis dan pengobatan suatu penyakit bergantung pada pemahaman tentang patofisiologinya. Penyakit sistem endokrin, yang umumnya disebabkan kelebihan atau kekurangan produksi hormon, merupakan contoh baik untuk menerapkan ilmu kedokteran dasar di tingkat molekuler kedalam klinik. Deteksi mutasi gen dan menghubungkannya dengan berbagai penyakit merupakan jantung dari ledakan informasi saat ini dalam dunia kedokteran dan banyak aplikasi dalam diagnosis molekuler. Salah satu dampak penting diantaranya adalah revolusi dalam genetika molekuler, dimana kita mampu melokalisasi gena yang berperan untuk terjadinya penyakit tanpa harus mengetahui protein yang mengalami perubahan, yang dikenal dengan *positional cloning*. Diagnosis molekuler memiliki potensi untuk meningkatkan peran pemeriksaan laboratorium dalam menegakkan diagnosis penyakit.

Endokrinologi reproduksi.

Definisi klasik dari hormon adalah suatu senyawa yang diproduksi oleh jaringan khusus yang dilepaskan ke aliran darah dan berjalan jauh menuju sel spesifik dimana hormon akan memberikan efek spesifiknya. Apa yang dulunya dianggap sebagai perjalanan

sederhana kini terungkap sebagai perjalanan panjang dan menjadi semakin kompleks pada saat berbagai hasil penelitian di dunia tidak mampu menjelaskannya secara rinci, bahkan pengertian hormon yang hanya dihasilkan oleh jaringan spesifik kini menjadi sangat dipertanyakan. Kompleks hormon dan resptornya kini ditemukan pada organisme sel tunggal primitif, dan ini menggambarkan bahwa kelenjar endokrin sebenarnya merupakan hasil evolusi yang berkembang sangat lambat kemudian. Kemampuan yang begitu luas dari berbagai sel untuk memproduksi dan berreaksi terhadap hormon, menimbulkan kenyataan yang tidaklah mengherankan apabila sel kanker dapat menghasilkan hormon, karena pada dasarnya setiap sel memiliki gena yang dapat mengekspresikan hormon, tergantung pada diferensiasinya dan lingkungannya. Kini, hormon dan neurotransmitter sebenarnya harus dipandang sebagai alat komunikasi atau regulator kimiawi dan signal. Peran hormon kini tidak hanya sebagai senyawa endokrin, namun juga parakrin, autokrin atau intrakrin.

Karena fungsi komunikasinya, maka fungsi setiap signal akan dipengaruhi oleh bagaimana signal tersebut disintesis, dilepaskan, berjalan menuju target reseptor (transport), berikatan dengan reseptor, menimbulkan reaksi/efek biologis dan mengalami degradasi atau dihentikan efeknya. Sebagai contoh pada system reproduksi, kini kita ikuti perjalanan estradiol dalam malukan fungsinya, mulai dari bagaimana diproduksinya, dilepaskannya, ditransport, mekanisme efeknya (ikatan dengan reseptor dan efek paska ikatan reseptor), dan metabolismenya. Estradiol memulai perjalanannya dengan disistesisnya pada sel spesifik yang memiliki enzim dan precursor yang sesuai untuk steroidogenesis, suatu proses pembentukan hormon steroid. Pada wanita dewasa sumber utama estradiol adalah sel-sel granulosa dari folikel yang sedang berkembang dan korpus luteum. Proses steroidogenesis memerlukan stimulasi dari gonadotropin, *Follicle-stimulating hormone* (FSH) dan *Luteinizing hormone* (LH). Pesan yang dibawa oleh signal gonadotropin harus ditransmisikan melalui membrane sel folikel atau korpus luteum, karena gonadotropin yang berupa glikoprotein besar tidak mampu menembus membran sel yang berupa lipid bilayer, namun akan berikatan dengan reseptor spesifiknya pada membrane sel. Ikatan signal-reseptor ini memulai suatu rangkaian proses komunikasi signal. Dimulai dengan diaktifkannya protein G, yang selanjutnya akan mengaktifkan enzim adenilat siklase . Enzim ini selanjutnya akan mengkatalisis pemecahan ATP menjadi siklik adenosin monofosfat atau cAMP. cAMP sebagai pembawa pesan berikut dari proses komunikasi ini

selanjutnya akan menyebabkan terjadinya rangkaian reaksi sintesis hormon steroid, dalam hal ini estradiol. Proses transmisi pesan ini kini diketahui menjadi semakin kompleks dengan diungkapkannya peran berbagai molekul dalam proses fisiologi hormonal ini, termasuk heterogenitas dari molekul polipeptida pembawa signal dan reseptornya, regulasi dari ekspresi reseptor pada membran sel, serta hubungannya dengan sistem signal lainnya. Respon target sel terhadap signal akan menurun manakala terjadi stimulasi yang terus menerus, hal ini setidaknya melibatkan 3 mekanisme, yaitu :

1. desensitasi secara autofosforilasi dari segmen sitoplasmik dari reseptor
2. hilangnya kemampuan internalisasi dari reseptor, suatu mekanisme yang berjalan lebih lambat
3. blokade ikatan pada unit regulator dan katalitik dari enzim adenilat siklase

Mengikuti stimulasi gonadotropin terhadap sel yang memproduksi hormon steroid seksual maka langkah awal dan penting yang terjadi pada steroidogenesis dari semua jenis hormon steroid adalah pemutusan rantai samping kolesterol untuk membentuk pregnenolon yang melibatkan sistem sitokrom P450 dan terjadi di mitokondria. Selama steroidogenesis, jumlah atom karbon dari kolesterol atau molekul steroid yang terbentuk akan terus berkurang atau tidak akan pernah bertambah. Secara keseluruhan proses ini akan melibatkan reaksi-reaksi :

1. pemutusan rantai samping kolesterol untuk membentuk pregnenolon
2. reaksi dehidrogenasi yang mengubah gugus hidroksil menjadi keton atau sebaliknya
3. reaksi hidroksilasi yang menambahkan gugus hidroksil
4. pembentukan ikatan rangkap
5. penambahan hydrogen untuk mengurangi ikatan rangkap.

Berbagai protein telah berhasil dikarakterisasi dan diduga berperan sebagai regulator transfer kolesterol didalam sel. *Sterol carrier protein 2* (SCP2) merupakan protein yang mampu mengikat dan membawa kolesterol antar kompartemen dalam sel. Protein yang banyak dipelajari sebagai regulator transfer kolesterol pada steroidogenesis adalah *steroidogenic acute regulator protein* (StAR protein) yang berlokasi didalam mitokondria. StAR diinduksi oleh peningkatan cAMP akibat stimulasi gonadotropin. Mutasi dari gena pengkode StAR yang menyebabkan prematur stop kodon, telah ditemukan pada hiperplasia adrenal lipoid kongenital, suatu kelainan resesif autosomal. Akibat mutasi ini akan terjadi

penurunan steroidogenesis, meskipun masih bisa terjadi feminisasi hingga pubertas. Namun stimulasi terus menerus dari gonadotropin menyebabkan akumulasi intraseluler dari deposit lipid yang akan mengganggu kemampuan steroidogenesis.

Sekresi estradiol ke aliran darah langsung terjadinya setelah proses sintesisnya. Begitu memasuki aliran darah, estradiol ada dalam dua bentuk, yaitu terikat pada protein transporternya, dan bentuk bebas. Kebanyakan dari estradiol ini terikat dengan protein pembawanya, yaitu albumin dan *sex steroid hormone-binding globulin*. Fungsi dari ikatan ini masih belum jelas sepenuhnya. Diduga adanya ikatan ini mencegah reaksi yang langsung dan ekstrim dari hormon ini begitu memasuki aliran darah, serta mencegah rusaknya hormon akibat reaksi metabolisme dengan berbagai senyawa yang ada pada aliran darah, sehingga signal hormonal ini akan mampu bertahan untuk mencapai target sel dan menghasilkan efek biologis yang dimaksud. Mekanisme yang menyerupai penyimpanan sementara ini menghindari efek fluktuasi kadar hormon sehingga dapat memberikan aktifitas yang lebih stabil.

Efek biologis dan metabolik dari suatu hormon ditentukan pula oleh kemampuan dari sel target untuk menerima dan mempertahankannya. Estradiol yang sudah tidak berikatan dengan transporternya begitu mendekati target sel akan langsung mampu menembus membrane sel yang merupakan lipid bilayer, tidak seperti halnya signal polipeptida yang berikatan dengan reseptornya pada membran sel. Untuk dapat memberikan efek biologis, estradiol harus berikatan dengan reseptornya didalam sel. Ikatan steroid dengan reseptornya menyebabkan perubahan konformasi (alosterik) yang menghasilkan terbentuknya kompleks steroid-reseptor yang teraktifasi yang memiliki afinitas tinggi terhadap tempat ikatan DNA. Aktifasi akibat perubahan konformasi ini dapat terjadi akibat lepasnya ikatan kompleks ini dengan *heat shock protein-90* (hsp90). Proses aktifasi ini tidak hanya terjadi di sitoplasma namun juga pada kompartemen inti. Kompleks hormon-reseptor ini selanjutnya berikatan dengan daerah spesifik di DNA yang dikenal sebagai *hormone response element* (HRE), dan mengaktifasi atau menginaktifasi gena spesifik. Jadi peran kompleks hormon-reseptor ini adalah untuk membantu menyampaikan pesan yang dibawa oleh estradiol kedalam inti untuk mempengaruhi proses transkripsi sehingga dihasilkan *messenger RNA* (mRNA) yang berperan pada sintesis protein. mRNA ini selanjutnya akan ditransfer ke ribosom dan akhirnya akan terjadi sintesis protein di

sitoplasma yang berperan menghasilkan aktifitas seluler spesifik. Protein spesifik yang dihasilkan inilah yang selanjutnya akan menimbulkan efek spesifik dari signal estradiol. Kompleks hormon steroid-reseptor awalnya mempengaruhi transkripsi gen, namun selanjutnya juga berperan mengatur fase paska transkripsi dan kejadian non genomic lainnya. Kompleks steroid-reseptor mengatur transkripsi gen melalui mekanisme yang multipel yang tidak seluruhnya memerlukan interaksi langsung dengan DNA. Spesifisitas reaksi dari jaringan terhadap hormon steroid sex disebabkan oleh adanya reseptor protein intrasel.

Setelah interaksinya dengan DNA, kompleks hormone-reseptor ini akan mengalami perubahan yang belum dapat dimengerti seluruhnya, namun yang jelas akan terjadi disosiasi antara hormon dan reseptornya. Reseptor selanjutnya akan mengalami daur ulang dan hormone akan mengalami eliminasi dari sel. Selanjutnya setelah menimbulkan efek intraseluler, sel-sel yang mampu membersihkan estradiol dari sirkulasi darah akan mengakhiri proses komunikasi signal ini melalui rangkaian reaksi biokimiawi, dimana estradiol akan didegradasi dengan mengkonjugasinya menjadi senyawa yang lebih larut dalam air (melalui konjugasi sulfat dan glukoronat) sehingga dapat disekresikan melalui urin dan cairan empedu.

Dari sini tampak bahwa hormon steroid memiliki perjalanan yang bervariasi dalam waktu hidupnya yang singkat. Dari sini juga dapat dimengerti bahwa pendekatan molekuler dalam diagnosis berbagai kelainan endokrinologi sistem reproduksi akan menjadi sangat kompleks. Disatu sisi produksi steroid hormon memerlukan stimulasi hormon polipeptida yang sistesisnya dikode oleh gena tersendiri, dan kaskade signal melibatkan reseptor dan berbagai protein atau molekul lainnya yang cukup kompleks. Disisi lain, sintesis dan transpor steroid yang menjadi peran utama endokrinologi reproduksi juga melibatkan berbagai molekul protein yang berperan sebagai enzim atau transporter, yang sintesisnya juga dikode oleh gena tersendiri.

Diagnostik molekuler

Seperti halnya semua spesialis, ahli endokrinologi berharap untuk dapat mengenali dan mengobati penyakit sedini mungkin jika tidak mampu mencegah terjadinya penyakit dan akibatnya. Pengobatan yang terlambat dilakukan tidak akan mudah dan berhasil baik dibandingkan jika dilakukan sedini mungkin. Oleh karena itu seorang dokter harus

senantiasa waspada terhadap berbagai manifestasi klinis dini minimal dari penyakit endokrin dan berusaha untuk mendapatkan diagnosis dini dengan bantuan berbagai pemeriksaan laboratorium. Pengaruh tingginya biaya mengharuskan dilakukannya prioritas untuk mencapai efisiensi diagnosis. Meskipun berbagai pemeriksaan laboratorium kini memerlukan biaya yang tidak murah, namun telah terbukti mampu memberikan dukungan diagnosis yang lebih baik dibanding sebelumnya. Jadi, penggabungan pemeriksaan laboratorium yang efisien yang didasarkan pada riwayat penyakit dan hasil pemeriksaan fisik dengan penilaian klinis yang baik, diagnosis dan pengobatan penyakit endokrin akan lebih baik, lebih cepat, dan lebih murah dibanding waktu yang lalu.

Berbagai metoda diagnosis penyakit genetik yang menggunakan analisis DNA telah berkembang sangat pesat meskipun masih belum digunakan secara luas. DNA dapat diperoleh dari sel darah perifer, difraksinasi dan dihibridisasi menggunakan probe spesifik atau disekuensi. Dalam kasus tertentu dimana mutasi terhadap DNA telah diketahui, prosedur analisis DNA dapat mendorong diagnosis yang lebih cepat dan akurat pada populasi. Namun pada kebanyakan penyakit genetik terjadi mutasi bermacam-macam yang multiple yang memberikan gambaran klinis yang sama, sehingga penapisan genetik yang hanya dilakukan pada salah satu bentuk mutasi akan menyebabkan banyak penderita di populasi lolos dari penjarangan. Oleh karena itu, proses penapisan penyakit genetik di populasi akan lebih mudah menilai fenotipe yang muncul akibat mutasi. Contohnya, sindroma 21-hidroksilase yang disebabkan oleh beberapa mutasi yang berbeda akan lebih mudah dinilai dengan mengukur kadar 17-hidroksi progesterone dibanding menganalisis DNA dari berbagai mutasi yang mendasarinya.

Ada dua jenis analisis DNA yang umum dilakukan. Yang pertama adalah pemeriksaan langsung dari kelainan DNA dengan analisis sekuensing. Daerah DNA yang dicurigai terdapat kelainan di amplifikasi menggunakan metode reaksi rantai polimerase atau *polymerase chain reaction* (PCR). PCR merupakan metode yang menyerupai proses replikasi yang berlangsung *in vitro*, yang dijalankan oleh mesin secara otomatis. Dengan metoda ini hasil pemeriksaan dapat diperoleh meski hanya menggunakan bahan pemeriksaan satu sel saja. PCR menggunakan DNA primer yang mengawali replikasi DNA pada urutan spesifik dari DNA induk. Penggunaan enzim polimerase DNA yang stabil terhadap perubahan suhu memungkinkan terjadinya replikasi dari DNA untuk berulang-

ulang, yang akan menghasilkan jumlah kopi urutan daerah DNA yang dikehendaki dalam jumlah yang cukup banyak. Jadi ada tiga langkah penting pada proses amplifikasi DNA menggunakan teknik PCR, yaitu terbuka DNA utas ganda sehingga dihasilkan DNA tunggal sebagai *template*, yang dikenal sebagai fase denaturasi, perlekatan primer dengan DNA template atau dikenal sebagai *annealing*, dan pemanjangan primer dengan penempelan nukleotida yang dikenal sebagai ekstensi. DNA yang teramplifikasi ini selanjutnya akan dianalisis urutannya dengan menggunakan probe khusus atau dengan menggunakan sekuensing. Metode kedua adalah restriction fragment length polymorphisms (RFLPs). Metode ini menggunakan enzim restriksi (pemotong) untuk memotong DNA pada daerah atau urutan spesifik dari gena yang dikehendaki, sehingga terbentuklah fragmen-fragmen dengan panjang tertentu. Teknik ini memungkinkan pemeriksaan adanya mutasi dari urutan DNA, karena perubahan urutan tersebut dapat menyebabkan tidak terpotongnya DNA yang dicurigai, sehingga akan dihasilkan fragmen pemotongan yang bervariasi.

Polimerase DNA adalah enzim yang mengikatkan nukleotida tunggal dengan induk DNA molekul (primer). Polimerase DNA dapat membentuk DNA hanya jika terdapat DNA template, sehingga rantai DNA baru yang terbentuk merupakan komplemen dari DNA template. Selain polimerase DNA terdapat pula polimerase RNA, suatu enzim polimerase yang akan membuat rantai RNA dengan hadirnya DNA template. Rantai DNA dapat pula dibuat berdasarkan template dari RNA dengan melibatkan DNA polimerase yang secara spesifik dikenal sebagai reverse transcriptase, dan proses amplifikasinya dikenal sebagai *reverse transcriptase-polymerase chain reaction* (RT-PCR).

Karena DNA dan RNA merupakan molekul yang bermuatan listrik, maka keduanya akan bergerak jika ditempatkan dalam medan listrik, sesuai dengan muatannya. Dengan prinsip ini maka fragmen DNA atau RNA hasil amplifikasi selalu dapat dianalisis dengan menempatkannya pada media berupa gel dari agarose ataupun polyacrylamide yang ditempatkan pada medan listrik, dan teknik ini dikenal sebagai elektroforesis. Fragmen terbesar akan bergerak paling lambat, sehingga fragmen terkecil akan bergerak paling jauh dan terlihat berada pada daerah terbawah.

Kini kita memasuki era biologi molekuler. Tak akan lama lagi permasalahan endokrin akan dapat dijelaskan di tingkat molekuler, baik yang menyangkut diagnosis

maupun pengobatan. Tak lama lagi, pemeriksaan hormon secara tradisional akan ditinggalkan pada praktek klinik. Kekuatan biologi molekuler akan menyentuh kita semua dengan pendekatan bahasanya sendiri. Diagnosis molekuler dari kelainan genetik misalnya, hanya memerlukan sample DNA dalam jumlah kecil yang bisa didapat dari setiap sel yang berinti, seperti sel darah putih atau sel epitel. Diagnosis molekuler dapat menjadi terbatas penggunaannya oleh adanya perubahan genetik yang heterogen. Dengan kata lain, banyak kelainan yang melibatkan berbagai mutasi pada individu yang berbeda, meskipun ada yang memiliki bentuk mutasi yang sama. Sebagai contoh, 70% kasus cystic fibrosis memiliki delesi pada 3 basa yang sama, sedangkan 30% lainnya memiliki mutasi yang sangat heterogen. Demikian pula dengan polycystic ovary syndrome (PCOS), suatu kelainan heterogen yang memiliki etiologi multiple ini, juga memiliki dasar genetik yang multiple, sehingga penggunaan teknik diagnostik molekuler bukanlah satu pendekatan yang praktis untuk proses penapisan.

Penutup

Pemeriksaan laboratorium penunjang merupakan hal yang penting untuk menegakkan dan mengkonfirmasi diagnosis endokrin. Berkembangnya berbagai pemeriksaan laboratorium penunjang yang canggih telah mendorong dokter banyak bergantung padanya. Namun bagaimanapun juga, berbagai pemeriksaan ini tidak akan dapat menggantikan penilaian klinis yang baik yang menggunakan semua informasi yang tersedia dalam membuat keputusan klinis. Pemeriksaan laboratorium pada umumnya mengukur kadar atau efek hormon, atau kelainan akibat gangguan hormonal. Pemeriksaan dapat dilakukan dalam keadaan basal, keadaan tertentu yang dikehendaki, atau dibawah pengaruh rangsangan tertentu. Dalam mengukur kadar hormone, aspek sensitivitas dan spesifisitas harus menjadi pertimbangan. Penting untuk diingat bahwa berbagai pemeriksaan molekuler tampaknya tidak akan segera dapat menggantikan alat bantu diagnostik konvensional selama ini. Tingginya harga dan kompleksitas dari teknologi molekuler cenderung membatasi aplikasi klinisnya, meskipun informasi yang diberikan tidak dapat diperoleh dari metode diagnostik konvensional lain. Berkembangnya otomatisasi dan komersialisasi dari metode molekuler yang dirancang akan dapat

menurunkan biaya, mengurangi ingginya kebutuhan tingkat keahlian, dan akan menghasilkan terintegrasinya teknologi diagnostik molekuler kedalam praktek klinik.

Bahan bacaan.

1. Bulun S.E., and Adashi E.Y., The physiology and pathology of the female reproductive axis. In: Larsen P.R., Kronenberg H.M., Melmed S., and Polonsky K.S. eds: Williams Textbook of Endocrinology. Saunders. 2003:627-637.
2. Devlin, T.M.: Textbook of biochemistry with clinical correlation. 5th ed. A Wiley Medical Publications. New York, 2004
3. Goodman, S.R., 1998, Signal transduction events., In: Medical Cell Biology. 2nd Ed., Lippincott-Raven. New York.
4. Lodish H., Berk A., Zipursky S. L., Matsudaira P., Baltimore D., and Darnell J., *Molecular Cell Biology*, 5th edition, W.H. Freeman and Co., New York, 2004
5. Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A. and Rodwell V.M.: *Harper's Biochemistry*. 26th ed. Lange Medical Publications. USA, 2003
6. Sirica E.A., *Cellular and Molecular Pathogenesis*. 1st Ed., Lippincott-Raven.1996.
7. Speroff L., Glass R.H., and Nathan G.K., Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility. 6th Ed., Lippincott Williams & Wilkins. 1999