

Analisis Sekuensing Gen Anti Mullerian Hormon dan Prediksi Struktur Protein pada Insufisiensi Ovarium Primer = Anti Mullerian Hormone Sequencing Analysis and Prediction Protein Structure in Primary Ovarian Insufficiency

Budi Ermanto, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=9999920530466&lokasi=lokal>

Abstrak

Insufisiensi ovarium primer (IOP) adalah sindrom klinik yang ditandai dengan hilangnya aktivitas ovarium sebelum usia 40 tahun, disertai gangguan menstruasi, peningkatan gonadotropin dan rendahnya kadar estradiol. Kondisi tersebut menyebabkan infertilitas. Diagnosis IOP ditegakkan berdasarkan hormon FSH, tetapi memerlukan 2 kali pemeriksaan dalam waktu 4-6 minggu, sehingga digunakan persentil wiweko untuk mengetahui kadar AMH sebagai prediktor cadangan ovarium. Kadar AMH rendah menunjukkan cadangan ovarium juga rendah; diduga karena ada mutasi gen AMH sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui hubungan antara mutasi gen dengan hormon AMH. Penelitian potong lintang ini dilakukan di Rumah Sakit dr Cipto Mangunkusumo (RSCM) Jakarta dalam kurun waktu Juni 2021-Maret 2022. Subjek penelitian adalah pasien yang dikonsultasikan ke RSCM untuk masalah gangguan menstruasi. Subjek dibagi tiga kelompok yaitu kelompok IOP, SOPK dan kontrol, kemudian dilakukan uji karyotiping dengan G-banding untuk mengetahui normalitas kromosom. Selanjutnya diperiksa urutan gen AMH dan SNP menggunakan sanger sekuensing, sedangkan kadar AMH diperiksa dengan uji ELISA. Data diolah dengan SPSS versi 20 dan uji statistik yang digunakan adalah Uji Mann Whitney, chi square, exact fisher dan uji korelasi spearman. Dari total 31 subjek penelitian, 8 subjek masuk dalam kelompok IOP, 16 subjek SOPK, dan 7 subjek kontrol. Terdapat 30 mutasi dengan 2 mutasi novel pada promotor gen AMH dan 3 mutasi novel pada struktur gen AMH. Terdapat 14 SNP pada kelompok IOP dan 15 SNP pada kelompok SOPK, dengan nilai LDI > 0,8 yang berarti kemunculan satu mutasi diikuti oleh mutasi di titik lain. Mutasi struktural gen AMH, SNP P247Q, menyebabkan perubahan prolin menjadi glutamin. Mutasi itu mengubah folding pada model prediksi 3D protein AMH. Mutasi pada kelompok IOP memiliki nilai HW 0,014; artinya, mutasi tidak diwariskan ke generasi selanjutnya. Terdapat perbedaan bermakna distribusi frekuensi mutasi promotor gen AMH antara kelompok IOP dengan SOPK, pada titik mutasi 19:g.2249146T>G ($p=0,007$) dengan rasio prevalens RP (95%CI) = 5(1,6-14,9) terhadap SOPK, sehingga genotipe TG 5 kali lebih besar kemungkinan menjadi IOP. Disimpulkan terdapat mutasi pada promotor dan struktural gen AMH pada semua kelompok, yang menyebabkan perbedaan urutan basa; namun tidak bermakna. Model prediksi struktur 3D AMH menunjukkan perubahan folding di titik P247Q yang mengalami mutasi, sehingga mengakibatkan perubahan struktur protein. Jumlah dan jenis mutasi pada struktural gen AMH tidak berhubungan dengan kadar AMH. Jumlah mutasi di promotor gen AMH tidak memengaruhi kadar AMH pada semua kelompok.

.....Primary ovarian insufficiency (POI) is a clinical syndrome characterized by the loss of ovarian function before the age of 40, resulting in menstrual irregularities, elevated gonadotropin levels, and decreased estradiol levels. It leads to infertility. Diagnosis of POI requires two FSH hormone tests within a 4-6 week period. To predict ovarian reserve, AMH levels are measured using the Wiweko percentile. Low AMH levels indicate diminished ovarian reserve, possibly due to AMH gene mutations. Hence, a study was

conducted at Cipto Mangunkusumo Hospital (RSCM) in Jakarta from June 2021 to March 2022. The study included three groups: POI, polycystic ovary syndrome (PCOS), and control. G-banding karyotyping determined chromosomal normality, while Sanger sequencing examined AMH gene sequence and single nucleotide polymorphisms (SNPs). ELISA was used to measure AMH levels. Statistical analysis employed SPSS version 20, including tests like Mann-Whitney, chi-square, exact Fisher, and Spearman correlation.

Out of 31 subjects, 8 had POI, 16 had PCOS, and 7 were controls. The study identified 30 mutations, including 2 novel promoter mutations and 3 novel missense mutations in the AMH gene structure. The POI group had 14 SNPs, while the PCOS group had 15, with an LDI value > 0.8 indicating multiple mutations. The SNP P247Q caused a proline to glutamine change, impacting the protein structure. The HW value of POI mutations was 0.014, suggesting no inheritance.

There was a significant difference in the distribution of AMH gene promoter mutation frequencies between the IOP and PCOS groups, at the mutation point 19:g.2249146T>G ($p=0.007$) with a prevalence ratio of RP (95%CI) = 5(1.6-14.9) to PCOS, so that the TG genotype is 5 times more likely to become IOP.. In conclusion, mutations occurred in both promoter and structural regions of the AMH gene but did not significantly impact AMH levels. The 3D model predicted structural changes at the P247Q mutation point. The number and type of structural mutations were unrelated to AMH levels. The number of promoter gene mutations did not affect AMH levels in any group.