

Peran polimorfisme gen Collagen type 1 alpha 1 (COL1 α 1) terhadap penurunan densitas mineral tulang vertebra lumbal akseptor KB suntik DMPA

A.M. TAHIR

Departemen Obstetri dan Ginekologi
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin/
BLU RS Dr. Wahidin Sudirohusodo
Makassar

Tujuan: Untuk menilai dampak pemakaian kontrasepsi suntik DMPA pada densitas mineral tulang Vertebrata Lumbal (VL1-4) pada akseptor jangka panjang (≥ 5 tahun), dengan alat *Dual Energy X-ray Absorptiometry* (DEXA), sekaligus melihat apakah ada peranan faktor genetik dalam hal ini polimorfisme gen Collagen type 1 Alpha 1 (COL1 α 1) terhadap penurunan DMT pada akseptor KB suntik DMPA tersebut dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

Tempat: Penelitian dilakukan di Makassar antara Januari 2007 - Maret 2007 pada 31 orang akseptor suntik DMPA jangka panjang (≥ 5 tahun).

Rancangan/rumusan data: Studi potong lintang.

Hasil: Karakteristik sampel berdasarkan usia terbanyak: 30-35 tahun. Pendidikan SLTA (61,3%), Berat badan 40-45 kg (77,4%), Tinggi badan: 145-149 cm (38,7%), Indeks Massa Tubuh (IMT): 20,0-25,0 kg/m² (87,1%). Ditemukan 19 orang (61,3%), dengan DMT V. Lumbal normal dan 12 orang (38,7%) dengan DMT V.L-4 dibanding V.L-1 dan V.L-2. Prevalensi polimorfisme gen COL1 α 1 pada penelitian ini 45,2% (32,3% G/T dan 12,9% T/T). Kejadian osteopeni lebih banyak ditemukan pada subjek yang memiliki gen heterozigot (G/T atau S/s) daripada subjek yang mempunyai gen homozigot normal (G/G atau S/S) = ($p < 0,05$), dan tidak ditemukan kejadian osteopenia pada subjek yang memiliki polimorfisme gen homozigot (T/T atau s/s).

Kesimpulan: Akseptor yang memiliki polimorfisme gen heterozigot (G/T atau S/s) memiliki kecenderungan untuk menderita osteopeni lebih tinggi daripada yang memiliki gen normal (G/G atau S/S). Di pihak lain, akseptor yang memiliki polimorfisme gen homozigot (T/T atau s/s) justru cenderung tidak menderita osteopeni.

[Maj Obstet Ginekolog Indones 2009; 33-3: 176-84]

Kata kunci: DMT, DMPA, polimorfisme gen COL1 α 1

Objective: The study conducted to assess the impact of contraception DMPA injection to BMD of lumbar spines (LS1-4) for long term acceptors (≥ 5 years) using Dual Energy X-ray Absorptiometry (DEXA), and the role of genetic factor such as polymorphism of Collagen Type 1 Alpha 1 gene (COL1 α 1) to the decrease of bone mineral density in DMPA injection acceptors using PCR.

Setting: The study conducted in Makassar from January until March 2007.

Design/data identification: Cross sectional study.

Result: 31 long term DMPA injection acceptors were recruited. The samples were: 30-35 years old (64,5%), level of education: High School (61,3%), Body weight: 40-45 kg (77,4%), Height: 145-149 cm (38,7%) and Body Mass Index: 20,0-25,0 kg/m². Nineteen acceptors (61,3%) have normal BMD and 12 acceptors (38,7%) have osteopenia. The incidence of osteopenia was higher in Lumbar Spine 3 and 4 than Lumbar Spine 1 and 2. The prevalence of polymorphism of COL1 α 1 is 45,2% (32,3% G/T and 12,9% T/T). The incidence of osteopenia was higher in heterozygote gene acceptors (G/T or S/s) than normal gene acceptors (G/G or S/S) = $p < 0,05$, and no incidence of osteopenia was found in acceptors who have homozygote gene polymorphism of COL1 α 1 (T/T or s/s).

Conclusion: The incidence of osteopenia was higher in heterozygote gene acceptors (G/T or S/s) than normal gene acceptors (G/G or S/S), and no incidence of osteopenia was found in acceptors who have homozygote gene polymorphism of COL1 α 1 (T/T or s/s).

[Indones J Obstet Gynecol 2009; 33-3: 176-84]

Keywords: BMD, DMPA, Polymorphism of COL1 α 1 gene

PENDAHULUAN

Osteoporosis adalah suatu penyakit sistemik tulang yang ditandai oleh menurunnya densitas mineral tulang dan kelainan mikroarsitektur, sehingga tulang akan menjadi rapuh, dengan akibatnya mudah patah (fraktur).^{1,2} Penyakit sistemik ini merupakan salah satu masalah kesehatan yang sangat penting, dihubungkan dengan menurunnya kualitas hidup dan tingginya biaya perawatan.

Pada tahun 1995, lebih 28 juta orang Amerika menderita osteoporosis, yang 80% di antaranya adalah perempuan.³ Lebih dari 200 juta perempuan

di seluruh dunia menderita osteoporosis. Angka fraktur karena osteoporosis di seluruh dunia, diproyeksikan akan meningkat dari 1,66 juta pada tahun 1950 menjadi 6,26 juta pada tahun 2050. Peningkatan angka fraktur sangat menyolok terjadi di Asia, yang diproyeksikan meningkat dari 600.000 pada tahun 1950 menjadi 3,2 milyar orang pada tahun 2050.⁴ Dampak yang sangat serius ini, dan terutama menimpa sebagian besar perempuan, memerlukan strategi pencegahan yang segera, termasuk pengembangan penelitian terhadap risiko terjadinya fraktur osteoporosis melalui deteksi terhadap penurunan densitas mineral tulang (DMT) pada perempuan.

Penurunan DMT pada perempuan, dikaitkan dengan menurunnya kadar estrogen sebagai faktor yang berperan dalam pembentukan tulang. Hal ini dapat terjadi oleh karena beberapa faktor seperti kehamilan, menyusui, dan penggunaan kontrasepsi progestin jangka panjang, di antaranya adalah kontrasepsi suntik Depo Medroksi Progesteron Asetat (DMPA).

Penggunaan kontrasepsi suntik DMPA di Indonesia, sangat populer oleh karena kerjanya yang efektif, pemakaiannya yang praktis, harganya yang relatif murah dan aman.^{5,6} Pada umumnya uji klinis melaporkan tingkat kegagalan kontrasepsi ini yang kurang dari 1 kehamilan per 100 perempuan.⁷ Diperkirakan sekitar 40 juta perempuan di seluruh dunia pernah menggunakan metode kontrasepsi ini, dan kurang lebih 20 juta perempuan masih menggunakan metode ini.⁸

Beberapa penelitian melaporkan, adanya efek DMPA terhadap penurunan densitas mineral tulang pada akseptor DMPA jangka panjang, oleh karena mekanisme kerja DMPA yang menekan terjadinya ovulasi. Hal ini mengakibatkan terjadinya suasana hipoestrogenik yang pada akhirnya berdampak negatif pada absorpsi kalsium di usus sehingga pembentukan mineral tulang terganggu.¹⁰⁻¹³ Selain itu, DMPA mempunyai sifat seperti glukokortikoid yang menghambat formasi tulang^{14,15}, namun bersifat reversibel bila suntikan dihentikan.¹⁶⁻¹⁹

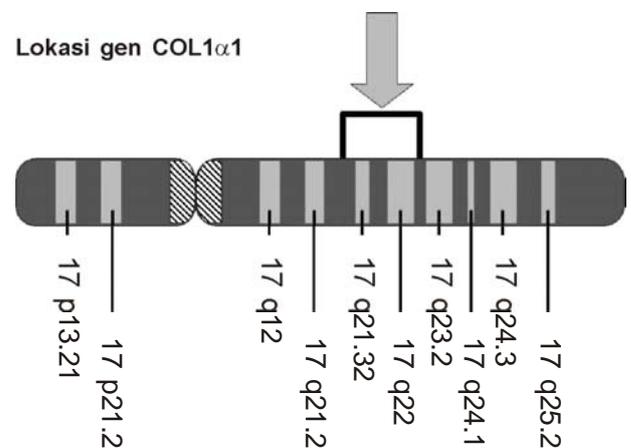
Densitas mineral tulang (DMT) adalah *marker* yang berguna untuk mewakili risiko fraktur dan merupakan sifat yang sangat diturunkan/diwariskan. Varian genetik yang mendasari kontribusi ini masih belum diketahui secara jelas. Akhir-akhir ini telah dilaporkan adanya hubungan antara variasi genetik (gen kolagen tipe 1 α 1/COL1 α 1) dengan densitas mineral tulang (DMT), di mana individu dengan variasi gen COL α A1 diduga mempunyai kontribusi genetik untuk risiko penurunan densitas mineral tulangnya.²⁰⁻²²

Penelitian tentang efek penyuntikan DMPA jangka panjang terhadap DMT akseptor KB suntik DMPA di Indonesia masih sangat kurang, terlebih lagi bila dihubungkan dengan adanya pengaruh faktor genetik, belum pernah dilaporkan di Indonesia. Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang seberapa besar kontribusi faktor genetik berdampak pada semakin beratnya penurunan DMT akseptor DMPA pada populasi masyarakat kita, terutama karena penelitian-penelitian selama ini sebagian besar dilakukan di negara-negara maju.

Gen yang mengkode kolagen tipe I (COL1 α 1 dan 2) sangat penting dan sudah banyak diteliti se-

bagai kandidat patogenesis dari osteoporosis. Polimorfisme pada gen ini sudah dibuktikan meningkat prevalensinya pada penderita osteoporosis. Hubungan yang positif antara polimorfisme COL1 α 1 Sp1 dan massa tulang atau fraktur osteoporotik, sudah dilaporkan pada beberapa populasi. Perbedaan etnik juga telah dilaporkan, di mana prevalensi alel COL1 α 1 Sp1 dengan polimorfisme, didapatkan banyak pada etnik *Caucasian* tetapi jarang pada etnik Afrika dan China. Keseluruhan dari data menduga bahwa polimorfisme COL1 α 1 Sp1 menyebabkan suatu gangguan fungsi yang memberi dampak merugikan pada komposisi (matriks) tulang dan kekuatan mekanik tulang. Sebuah penelitian fungsional memperlihatkan bahwa polimorfisme Sp1 pada intron 1 akan merubah *binding site* Sp1, sehingga akan mempengaruhi transkripsi dari Gen COL1 α 1, produksi protein kolagen, serta sifat biomekanik dari suatu tulang.^{22,23} Polimorfisme COL1 α 1 mungkin tidak bernilai sebagai target pengobatan tetapi sebagai marker risiko fraktur osteoporotik.^{20,22,24,25}

Pemakaian DMPA secara luas sebagai kontrasepsi, terutama oleh perempuan usia muda, sering tanpa mempertimbangkan kemungkinan adanya efek samping DMPA, di antaranya penurunan densitas mineral tulang. Keadaan ini diperberat oleh data epidemiologis yang menunjukkan, bahwa dibandingkan dengan negara maju, keadaan densitas mineral tulang masyarakat Indonesia cenderung lebih rendah. Adanya interaksi pengaruh lingkungan, ras, dan genetik akan mempengaruhi bentuk fenotip yang terekspresi. Oleh karena itu peneliti tertarik untuk meneliti dampak pemakaian kontrasepsi DMPA terhadap densitas mineral tulang akseptor, di-



The COL1 α 1 gene is located on the long (q) arm of **Chromosome 17** between positions 21.3 and 22.1
More precisely, the COL1 α 1 gene is located from base pair 45,616,455 to base pair 45,633,991 on chromosome 17

Gambar 1. Lokasi gen COL1 α 1 pada kromosom 17

Target amplifikasi PCR



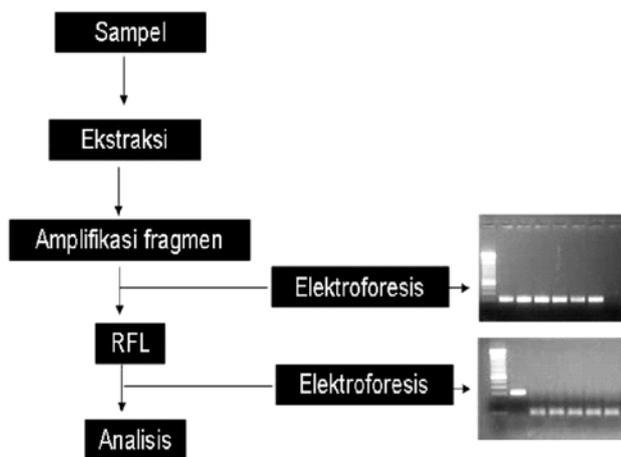
Gambar 2. Target amplifikasi PCR, di mana posisi G digantikan oleh T.

hubungan dengan faktor genetik sehingga diharapkan dapat memberikan informasi yang berguna terhadap praktisi medis maupun akseptor DMPA itu sendiri.

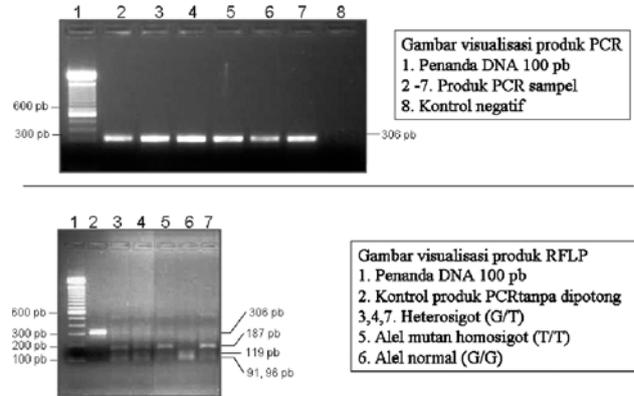
BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian ini merupakan penelitian *cross sectional*, selama periode Januari 2007 - Maret 2007 pada 31 orang Akseptor KB suntik DMPA ≥ 5 tahun, usia 25-35 tahun yang memenuhi kriteria inklusi. Pada subjek dilakukan pemeriksaan DMT Vertebra Lumbal 1-4 dan pengambilan contoh darah 3 ml dari vena cubiti untuk selanjutnya diisolasi DNA, PCR dan sekuensing.

DIAGRAM ALIR PEMERIKSAAN



Gambar 3A. Diagram alir pemeriksaan



Gambar 3B. Hasil visualisasi PCR dan RFLP

HASIL DAN DISKUSI

Selama periode bulan Januari 2007 - Maret 2007 telah dilakukan penelitian untuk menilai peran polimorfisme gen *Collagen Type 1 alpha 1* (COL1α1) terhadap penurunan densitas mineral tulang vertebra lumbal pada 31 orang akseptor KB suntik DMPA ≥ 5 tahun.

Hasil yang diperoleh diuraikan sebagai berikut.

Karakteristik sampel

Usia terbanyak antara 30-35 tahun (64,5%), pendidikan SLTA (61,3%), pekerjaan sebagai IRT (100%), BB antara 40-54 kg (77,4%), TB antara 145-149 cm (38,7%) dan IMT antara 20,0-25,0 kg/m² (87,1%), dengan karakteristik pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik sampel

Karakteristik	N	%
Usia:		
25 - 29 thn	11	35,5
30 - 35 thn	20	64,5
Pendidikan:		
SD	3	9,7
SLTP	9	29,0
SLTA	19	61,3
Pekerjaan:		
IRT	31	100
Berat Badan:		
40 - 44 kg	8	25,8
45 - 49 kg	8	25,8
50 - 54 kg	8	25,8
55 - 60 kg	7	22,6
Tinggi Badan:		
140 - 144 cm	4	12,9
145 - 149 cm	12	38,7
150 - 154 cm	8	25,8
155 - 160 cm	7	22,6
IMT:		
20,0 - 25,0 kg/m ²	27	87,1
≥ 25,1 kg/m ²	4	12,9

Rentang usia ini dipilih dengan pertimbangan sesuai dengan usia reproduksi sehat, di mana kontrasepsi sangat diperlukan oleh pasangan usia subur untuk menunda atau menjarangkan kelahiran anaknya. Juga berhubungan dengan tercapainya puncak massa tulang. Seperti yang dilaporkan oleh penelitian Cundy (1991)¹⁴ dan juga Scholes dan kawan-kawan (1994 - 1999 US)¹⁵, melaporkan bahwa terjadi penurunan DMT pada akseptor KB suntik DMPA terutama pada kelompok usia 18 - 21 tahun (kelompok risiko tinggi) karena proses mineralisasi tulang belum terbentuk dengan sempurna.

Densitas mineral tulang (skor-T) vertebra lumbal akseptor KB DMPA \geq 5 tahun

Dari 31 sampel didapatkan 19 orang akseptor (61,3%) dengan DMT normal dan 12 orang akseptor (38,7%) dengan DMT: osteopenia.

Distribusi angka kejadian Osteopenia pada masing-masing level vertebra lumbal

Ditemukan angka kejadian osteopenia pada masing-masing level vertebra lumbal akseptor (Tabel 2). Terlihat bahwa V.L-3 dan V.L-4 adalah vertebra yang paling banyak mengalami risiko untuk terjadi osteopeni dibanding kedua vertebra lainnya. Mungkin berhubungan dengan situs anatomi tubuh, di mana vertebra lumbal 3 dan 4 lah yang paling banyak menerima beban untuk menyangga berat tubuh manusia.

Tabel 2. Distribusi angka kejadian osteopeni pada vertebra lumbal 1-4

Kelompok	Normal		Osteopeni	
	n	(%)	n	(%)
Vertebra L-1	20	(64,5%)	11	(35,5%)
Vertebra L-2	19	(61,3%)	12	(38,7%)
Vertebra L-3	18	(58,1%)	13	(41,9%)
Vertebra L-4	18	(58,1%)	13	(41,9%)

Scholes dan kawan-kawan tahun 1994 hingga 1999¹⁵ secara kohort prospektif terhadap 457 perempuan yang tidak hamil usia 18-39 tahun (183 di antaranya adalah akseptor DMPA dan 274 bukan akseptor (dinilai setiap 6 bulan selama 3 tahun). Pada penelitian ini ditemukan adanya pengurangan densitas mineral tulang pada semua situs anatomik. Mean perbedaannya adalah 2,5% untuk tulang be-

lakang dan 2,2% pada kolum femur. Perbandingan usia yang spesifik menunjukkan perbedaan utama densitas mineral tulang antara pemakai dan bukan pemakai terjadi pada kelompok usia yang paling muda (18-21 tahun). Pada penelitian ini disimpulkan bahwa kontrasepsi DMPA khususnya penggunaan jangka panjang dapat mengganggu densitas mineral tulang pada perempuan usia 18-21 tahun dan pengaruhnya terhadap kesehatan tulang di masa yang akan datang masih memerlukan penelitian lebih lanjut.^{12,15,18}

Dibandingkan dengan penelitian Cundy dan kawan-kawan¹⁶ meneliti secara *cross-sectional* pada pengguna DMPA \geq 3 tahun terjadi penurunan DMT (VL) vertebra lumbal 9%, *femoral neck* 5,7%. Gbolade dan kawan-kawan (UK, 1998) secara *Cross-sectional* pada pengguna DMPA 1-16 tahun terjadi penurunan DMT (VL) vertebra lumbal 3,3%. Tang dan kawan-kawan²⁶ secara potong lintang pada pengguna DMPA 5-15 tahun terjadi penurunan DMT (VL) vertebra lumbal 1,1%, *femoral neck* 2,3%, *trochanter* 2,4%, *wards triangle* 3,5%.

Sebagaimana diketahui bahwa mekanisme kerja DMPA menghambat hipofisis membentuk hormon gonadotrophin dan hal ini menyebabkan penekanan terhadap proses ovulasi dan steroidogenesis ovarium. Penggunaan kontrasepsi DMPA dapat menyebabkan penekanan terhadap produksi estradiol ovarium.^{10,15,27} Sehingga ada anggapan bahwa osteopenia dapat terjadi pada perempuan yang menggunakan kontrasepsi DMPA.^{12,18} Akibatnya risiko terjadinya fraktur pada postmenopause akan meningkat.²⁷

Walaupun demikian, terdapat penelitian lain yang memperlihatkan hasil berbeda yaitu penelitian di Portsmouth dan Manchester pada 185 perempuan usia 17-52 tahun (rata-rata 33,3 tahun) pengguna DMPA lebih dari 5 tahun, menunjukkan tidak ada efek merugikan yang penting secara klinis terhadap densitas mineral tulang walaupun ditemukan penurunan berarti konsentrasi serum estradiol. Penelitian lain di Thailand pada 50 perempuan pengguna DMPA lebih dari 3 tahun, menunjukkan hasil yang sama.^{27,28}

Distribusi angka kejadian osteopenia menurut polimorfisme gen COL1 α 1 pada akseptor KB suntik DMPA \geq 5 tahun

Pada 31 orang akseptor suntik DMPA 5 tahun didapatkan: 19 orang dengan DMT VL normal (61,3%), 12 orang dengan DMT VL yang osteopeni (38,7%). Dari 31 orang tersebut, 17 orang dengan genetik normal (54,8%), 14 orang dengan polimorfisme gen COL1 α 1 (45,2%) yang terdiri dari:

- 7 orang dengan polimorfisme gen heterozigot (G/T) memiliki DMT VL Osteopenia.
- 4 orang dengan polimorfisme gen homozigot (T/T) memiliki DMT VL yang normal.
- 3 orang dengan polimorfisme gen heterozigot (G/T) memiliki DMT VL yang normal.
- serta 5 orang yang tanpa polimorfisme gen (G/G) memiliki DMT VL yang osteopeni.

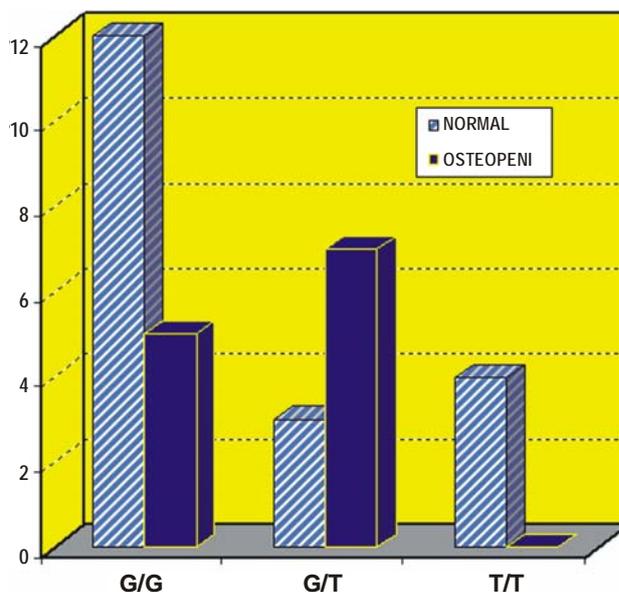
Tabel 3. Distribusi angka kejadian osteopeni menurut polimorfisme gen COL1 α 1 pada akseptor KB suntik DMPA \geq 5 tahun

Polimorfisme		DMT		Total
		Normal	Osteopeni	
G/G	n	12	5	17
	%	70,6%	29,4%	100,0%
G/T	n	3	7	10
	%	30,0%	70,0%	100,0%
T/T	n	4	0	4
	%	100,0%	0,0%	100,0%
Total	n	19	12	31
	%	61,3%	38,7%	100,0%

Ditemukan perbedaan distribusi kejadian osteopeni yang bermakna pada polimorfisme gen COL1 α 1 ($p=0,026$; $p<0,05$). Kejadian osteopeni lebih banyak ditemukan pada akseptor yang memiliki gen heterozigot daripada akseptor yang mempunyai gen normal ($p<0,05$). Pada akseptor yang memiliki gen homozigot tidak ditemukan kejadian osteopeni. (Tabel 3 dan Grafik 1)

Angka kejadian osteopeni menurut polimorfisme gen COL1 α 1 pada akseptor KB suntik DMPA \geq 5 tahun

Grafik 1 menunjukkan bahwa angka kejadian osteopeni pada akseptor yang memiliki polimorfisme gen heterozigot (G/T) lebih tinggi daripada akseptor yang memiliki gen normal (G/G), dan tidak ditemukan kejadian osteopeni pada akseptor yang memiliki polimorfisme gen homozigot (T/T). Ini menunjukkan bahwa akseptor yang memiliki polimorfisme gen yang heterozigot (G/T) memiliki kecenderungan untuk menderita osteopeni lebih tinggi daripada yang memiliki gen normal (G/G). Di pihak lain, akseptor yang memiliki polimorfisme gen homozigot (T/T) justru cenderung tidak menderita osteopeni.



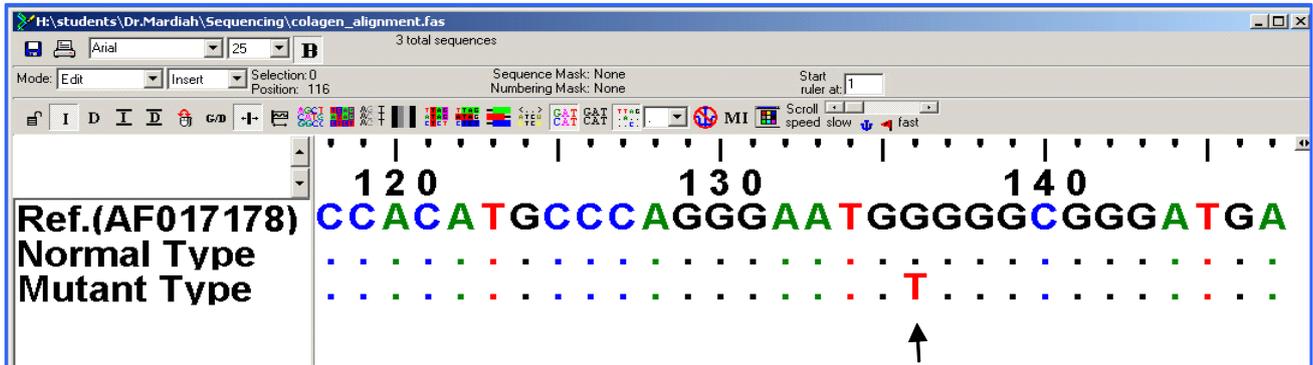
Grafik 1. Angka kejadian osteopeni menurut polimorfisme gen COL1 α 1 pada akseptor KB suntik DMPA \geq 5 tahun.

HASIL SEKUENSING

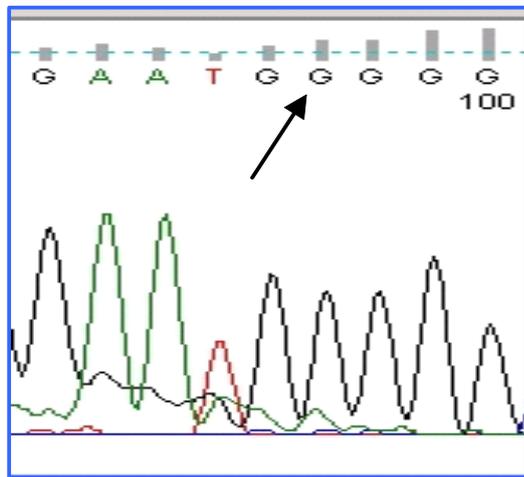
Peranan polimorfisme gen *Collagen Type 1 Alpha 1* (COL1 α 1) terhadap perubahan DMT VL akseptor KB Suntik DMPA

Dari hasil penelitian ini ditemukan polimorfisme gen COL1 α 1 pada intron 1 (Sp1 site/G-T) pada 14 dari 31 subjek (45,2%), masing-masing: 10 subjek (32,3%) dengan polimorfisme gen heterozigot (G/T) dan 4 subjek (12,9%) dengan polimorfisme gen homozigot (T/T). Alel umum "G" pada banyak literatur dikenal sebagai alel "S" dan variasi yang jarang alel "T" dikenal sebagai alel "s".

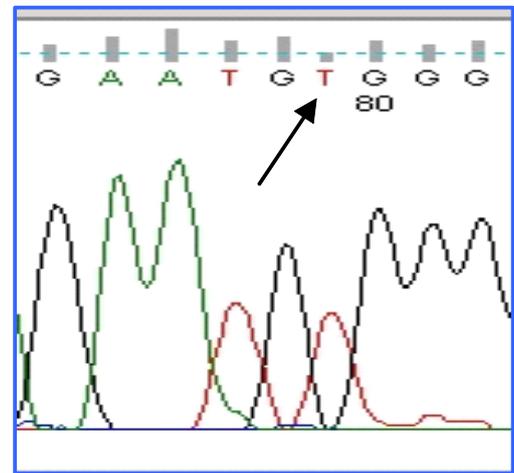
Polimorfisme adalah variasi genetik yang ditemukan lebih dari 1% populasi dan kejadiannya dapat ditemukan pada populasi orang normal. Prevalensi polimorfisme gen COL1 α 1 pada penelitian ini 45,2% (32,3% G/T dan 12,9% T/T) hampir sama dengan yang ditemukan di Australia yaitu 35% (30,6% G/T dan 4,4% T/T) pada pasien nonfraktur dan 44,9% (34,8% G/T dan 10,1% T/T) pada pasien fraktur tulang panggul. Di Inggris ditemukan 47% (27% G/T dan 20% T/T), di Belanda 33% (30% G/T dan 3% T/T) pada pasien postmenopause. Beaven dan kawan-kawan (1998)²² dan Ralston SH (2003)²⁹ melaporkan bahwa prevalensi polimorfisme gen COL1 α 1 Sp1 *binding site* berbeda untuk tiap populasi dan jenis etnik, sangat umum ditemukan pada etnik Kaukasia tetapi jarang pada etnik Afrika dan Asia.



Alignment hasil sekuensing sampel alel G dan alel T terhadap sekuens referensi



Alel G : GAATGGGGG



Alel G : GAATGTGGG

Gambar 4. Elektrofogram hasil sekuensing alel G dan alel T

Pertanyaan selanjutnya yang perlu dijawab adalah bagaimana pengaruh polimorfisme gen COL1- α 1 terhadap perubahan DMT VL akseptor KB suntik DMPA pada penelitian ini?

Hasil penelitian pada Tabel 3 dan Grafik 1 memperlihatkan angka kejadian osteopenia menurut polimorfisme gen COL1 α 1. Polimorfisme gen COL1 α 1 Sp1 yang ditemukan pada 14 subjek penelitian, masing-masing 10 subjek dengan variasi heterozigot (G/T atau S/s) yang terdiri dari 7 subjek dengan DMT VL osteopenia dan 3 subjek dengan DMT VL normal, kemudian 4 subjek dengan variasi homozigot (T/T atau s/s) yang semuanya memiliki DMT VL normal. Kejadian osteopenia lebih banyak ditemukan pada akseptor yang memiliki polimorfisme gen heterozigot (G/T atau S/s) daripada yang mempunyai gen homozigot normal (G/G atau S/S) = ($p < 0,05$), dan tidak ditemukan kejadian osteopenia pada akseptor yang memiliki polimorfisme gen homozigot (T/T). Ini menunjukkan bahwa akseptor

yang memiliki polimorfisme gen yang heterozigot (G/T) memiliki kecenderungan untuk menderita osteopenia lebih tinggi daripada akseptor yang memiliki gen normal (G/G). Di pihak lain, akseptor yang memiliki polimorfisme gen homozigot (T/T) justru cenderung tidak menderita osteopenia.

Dari hasil studi Meta analisis yang dilakukan pada populasi fraktur oleh Efstathiadou Z, dan kawan-kawan tahun 2001³⁰ melaporkan bahwa ada hubungan antara polimorfisme gen COL1 α 1 Sp1 dengan risiko terjadinya fraktur tulang. Mekanisme apa yang menyebabkan "alel s" dari gen COL1 α 1 berdampak pada DMT dan risiko fraktur sampai sekarang masih belum diketahui. COL1 α 1 adalah sebuah gen yang mengkode kolagen tipe 1, komponen pembentuk tulang yang berbentuk heterotrimer/triple helix terdiri atas 2 polipeptida kolagen alfa 1 dan 1 polipeptida kolagen alfa 2 yang sama strukturnya, tetapi secara genetik berbeda. Gen yang mengatur biosintesis rantai alfa 1 ditemukan

pada kromosom 17, sedangkan biosintesis rantai alfa 2 ditemukan pada kromosom 7.^{20,25,30} Mekanisme terjadinya predisposisi osteopeni pada variasi heterozigot gen COL1 α 1 Sp1 telah dijelaskan oleh Mann, dan kawan-kawan (2001)³¹ dan Stewart T, dan kawan-kawan (2006)²³ dikatakan bahwa alel T ("s alel") memiliki afinitas yang tinggi terhadap *protein binding site Sp1*, yang menyebabkan transkripsi alel-spesifik pada variasi jenis heterozigot. Keadaan ini disertai dengan meningkatnya produksi kolagen tipe 1 alfa 1 *chain osteoblast* secara abnormal pada kultur dengan variasi heterozigot G/T ("S/s alel"). Peningkatan ini berakibat meningkatnya rasio alfa 1 terhadap alfa 2 (Ketidakseimbangan antara produksi kolagen tipe 1 alfa 1 dan alfa 2) sehingga terbentuk molekul homotrimer. Keadaan ini menyebabkan menurunnya kekuatan tulang dan massa tulang pada "carrier alel s" dengan secara tidak langsung mempengaruhi menetralisasi tulang. Dengan tes biokimia didapatkan bahwa sampel tulang dengan variasi G/T ("S/s") dengan bentuk homotrimer memiliki kekuatan dan mineralisasi tulang yang lebih rendah dibanding dengan variasi G/G ("S/S").

Pada laporan lainnya dijelaskan bahwa subjek dengan variasi heterozigot "s alel" memiliki kemampuan transkripsi 3 kali lebih tinggi dibanding dengan "S alel" sehingga menimbulkan kemungkinan gangguan fungsional dari gen COL1 α 1, seperti yang terjadi pada penyakit osteogenesis imperfekta.

Di sisi lain, penelitian ini melaporkan bahwa ada 3 subjek dengan variasi heterozigot G/T (S/s alel) dan 4 subjek dengan variasi homozigot T/T (s/s alel) memiliki DMT VL yang normal. Mann V, dan kawan-kawan (2001)³¹ menjelaskan bahwa subjek yang memiliki 1 atau 2 "s alel" memiliki penurunan kekuatan tulang. Subjek dengan genotip heterozigot Ss memiliki risiko fraktur osteoporosis 52% lebih tinggi dibanding "S/S alel". Subjek dengan homozigot "s/s alel" memiliki risiko fraktur osteoporosis 86% lebih tinggi dibanding dengan "S/S alel". Efstathiadou, dan kawan-kawan (2001)³⁰ juga menyimpulkan bahwa risiko fraktur pada seseorang yang memiliki polimorfisme gen COL1 α 1 tipe heterozigot (S/s) 1,25 kali lebih tinggi daripada yang memiliki gen normal (S/S), pada orang yang memiliki polimorfisme gen tipe homozigot (s/s) 1,68 kali lebih tinggi daripada yang memiliki gen normal (S/S), dan 1,35 kali pada tipe homozigot (s/s) dari pada tipe heterozigot (S/s). Hasil penelitian kali ini yang menemukan nilai DMT VL normal pada 3 subjek heterozigot (G/T atau S/s) dan bahkan 4 subjek dengan variasi gen homozigot (T/T atau s/s), tidak sejalan dengan pernyataan tersebut

di atas. Keadaan yang sama pernah dilaporkan oleh Todhunter CE, dan kawan-kawan (2005) bahwa variasi homozigot "s/s" tidak bermakna pada penggunaan steroid terhadap DMT dibanding dengan variasi S/S dan Ss pada kasus penyakit Crohn disease.³²

Namun potensial heterogenitas antara kelompok etnik, usia dan situs tulang mungkin perlu diklarifikasi pada penelitian selanjutnya, karena hasil yang didapatkan belum sepenuhnya disetujui dalam hal tipe yang mana (S/S, S/s atau s/s) yang benar-benar berhubungan dengan risiko fraktur. Dikatakan juga bahwa pengaruh dari "s alel" belum konsisten di antara beberapa studi, bahkan 2 penelitian di Asia yang dilakukan oleh Han KO, dan kawan-kawan (Korea, 1999) dan Nakajima T, dan kawan-kawan (Jepang, 1999) yang dikutip oleh Efstathiadou Z, dan kawan-kawan 2001³⁰ justru tidak menemukan "s alel" pada populasi Asia.

Penelitian lain di Nederland,²⁵ yang dilakukan pada perempuan postmenopause menemukan adanya hubungan antara polimorfisme gen COL1 α 1 dengan DMT vertebra lumbal dan tulang panggul, di mana DMT tertinggi pada perempuan dengan genotip S/S, DMT sedang pada genotip S/s dan DMT terendah pada genotip s/s. Subjek yang mempunyai polimorfisme gen "s alel" dihubungkan dengan menurunnya DMT pada vertebra lumbal, kolum femoralis dan fraktur vertebra.²³ Beberapa hal yang dapat menjadi faktor perancu antara lain Indeks Massa Tubuh, usia, etnik dan jenis kelamin.³¹

Kenyataan yang ditemukan pada penelitian ini dan yang dilaporkan oleh Todhunter CE, dan kawan-kawan (2005)³² tersebut di atas dapat dijelaskan dari berbagai sudut pandang. Alasan pertama adalah sangat mungkin berhubungan dengan faktor etnis (Asia Tenggara) seperti yang dijelaskan oleh Ralston SH (2003)²⁹ dan Liu PY (2004)²² bahwa prevalensi polimorfisme gen COL1 α 1 Sp1 berbeda untuk tiap populasi etnik, sangat umum ditemukan pada etnik Kaukasian tetapi jarang pada etnik Afrika dan Asia. Pada sebuah studi meta analisis dijelaskan bahwa implikasi klinik dari polimorfisme gen COL1 α 1 Sp1 tergantung pada perbedaan prevalensi dari tiap populasi, sehingga karakter dari *dose-response* yang didapatkan dari penelitian ini sebaiknya tidak diekstrapolasi ke etnik Asia akan tetapi hanya berlaku untuk populasi Eropa dan Amerika.

Kedua adalah studi tentang efek fenotipik dari polimorfisme gen COL1 α 1 masih sangat bervariasi terhadap usia subjek. Subjek pada penelitian ini adalah usia reproduksi/premenopause (25-35 tahun),

sementara itu Efstathiadou, dan kawan-kawan (2001)³⁰ mengatakan bahwa ada efek yang sangat berbeda akan muncul dari variasi S/s dan s/s pada populasi usia pasien (< 65 tahun dengan usia yang lebih tua). Perbedaan ini bisa terjadi secara kebetulan atau karena persoalan data antara peneliti yang melaporkan hasil berdasarkan usia 25-35 tahun saja. Alasan lain, bahwa DMT yang dinilai pada penelitian ini hanya pada vertebra lumbal saja, kebanyakan studi tentang variasi "alel s" terfokus pada fraktur pada 3 situs anatomi yaitu tulang vertebra, pergelangan tangan dan tulang panggul. Walaupun perbedaan ini bisa terjadi secara kebetulan akan tetapi sampel penelitian dari tulang yang berbeda sebaiknya menjadi bagian penting dari penelitian-penelitian selanjutnya.^{29,31}

Perbedaan juga bisa muncul oleh karena adanya pengaruh gen lain atau adanya interaksi antara gen dan gen, atau gen dengan lingkungan. Beberapa jenis gen yang telah dilaporkan berpengaruh terhadap DMT dan risiko terjadinya fraktur antara lain: Gen IL-6, Gen Reseptor Vitamin D (VDR), Gen Estrogen Reseptor Alfa dan CYP19³³ Todhunter CE, dan kawan-kawan³² (2005) melakukan studi pada 1.000 subjek postmenopause dan melihat adanya interaksi antara gen COL1 α 1 dan gen Vitamin D reseptor (VDR) memberi pengaruh yang signifikan terhadap terjadinya fraktur tulang. Nguyen TV, dan kawan-kawan³³ (2005) melaporkan bahwa saling interaksi antara variasi gen VDR (Variasi CC) dengan variasi gen COL1 α 1 (TT) meningkatkan risiko fraktur tulang panggul pada perempuan Kaukasia.

KELEMAHAN PENELITIAN

Disadari bahwa terdapat beberapa kelemahan dalam penelitian ini antara lain: pemeriksaan DMT dilakukan hanya pada satu sisi/situs anatomi yaitu vertebra lumbal saja, sehingga tidak dapat menggambarkan secara keseluruhan status densitas mineral tulang. Kelemahan lain adalah tidak dilakukannya pemeriksaan DMT sebelum sampel mendapat kontrasepsi DMPA, melainkan sampel yang diambil adalah akseptor suntik DMPA yang sudah mendapat suntikan ≥ 5 tahun, jadi secara *cross sectional* saja tanpa melihat proses yang terjadi sebelumnya. Selain itu pada penelitian ini penentuan subjek penelitian dilakukan dengan metode wawancara (subjektif) tidak ditunjang oleh pemeriksaan laboratorium (objektif).

KESIMPULAN

Hasil dari penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut:

Peranan polimorfisme gen *Collagen Type 1 alpha 1* (COL1 α 1) terhadap Densitas Mineral Tulang akseptor KB suntik DMPA, belum dapat disimpulkan dengan pasti. Ada kecenderungan ditemukan polimorfisme gen COL1 α 1 pada akseptor suntik DMPA ≥ 5 tahun (jangka panjang).

SARAN

- Di dalam menyermati fenomena penurunan Densitas Mineral Tulang pada akseptor KB suntik DMPA, terutama pada pemakaian jangka panjang, maka peranan faktor genetik/polimorfisme gen *Collagen Type 1 alpha 1* (COL1 α 1) tidak bisa diabaikan sebagai salah satu faktor risiko.
- Perlu penelitian lanjutan untuk faktor-faktor lain gen *Collagen Type 1 alpha 1* (COL1 α 1) yang dapat mempengaruhi densitas mineral tulang akseptor KB suntik DMPA, mengingat penyebab terjadinya penurunan DMT adalah multifaktorial.

RUJUKAN

1. Morgan SL, Saag KG. Osteopenic bone disease a textbook of Rheumatology. 14th ed. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins.
2. Iqbal MM. Osteoporosis: Epidemiologi, diagnosis and treatment. South Med J 2000; 93(1): 2-18
3. Riggs BL, Melon LJ III. The worldwide problem of osteoporosis; insights afforded by epidemiology. Bone. 1995; 17 (5 suppl): 505-11
4. Cooper C, Campion G, Melton LJ. Hip fractures in the elderly: a world-wide projection. Osteoporosis Int 1992; 2: 285-9
5. Baziad A. Estrogen dan progesteron. Dalam: Endokrinologi ginekologi. Edisi ke 2. Jakarta: Media Aesculapius FKUI; 2003: 153-22
6. Saifuddin AB, Affandi B, Lu ER, editor. Kontrasepsi progestin. Dalam: Buku Panduan Praktis Pelayanan Kontrasepsi. Jakarta: Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo; 2003: MK 40-71
7. Affandi B. Long-acting progestogens. Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynecology 2002; 16-2: 169-79
8. Population Reports. 1995. New Era for Injectables. Series K. Number 5
9. Statistics Indonesia. Available on: <http://www.datastatistik-indonesia.com>. Last accessed on September 2007
10. Boroditsky R, Guilbert E. Injectable Medroksyprogesterone acetat for contraception. J Soc Obstet Gynecol Can 2000 August; 22 (8): 616-20

11. Cundy T, Cornish J, Roberts H, Reid IR. Menopausal bone loss in long-term users of depot medroxyprogesterone acetate contraception. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 186: 978-83
12. Berenson AB, Redecker CM, Grady JJ, Rickert VI, Thomas A. A Prospective, controlled study of the effects of hormonal contraception on bone mineral density. *The American College of Obstetricians and Gynecologists* 2001 Oct; 98(4): 576-82
13. Rachman IA. Osteoporosis: an overview. Dibawakan dalam: 1st Indonesian Course on Osteoporosis 2000; Mar 3-5 Sukabumi
14. Cundy T, Evans M, Roberts H, Wattie D, Ames R, Reid IR. Bone density in women receiving depot medroxyprogesterone acetate for contraception. *BMJ*. 1991; 208: 13-6
15. Scholes D, Lacroix A, Ott SM, Ichikawa LE, Barlow WE. Bone mineral density in women using depot medroxyprogesterone acetate for contraception. *The American College of Obstetricians and Gynecologists* 1999; 2 (93): 233-8
16. Cundy T, Cornish J, Evans MC, Roberts H, Reid IC. Recovery of bone density in women who stop using medroxyprogesterone acetate. *BMJ*. 1994; 308: 247-8
17. Scholes D, Lacroix A, Ott SM, Ichikawa LE, Barlow WE. Change in bone mineral density among adolescent women using and discontinuing Depot Medroxy Progesterone Acetate Contraception. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2005; 159: 139-44
18. Westhoff C. Bone mineral density and DMPA. *J Reprod Med* 2002 Sep; 47 (9suppl): 795-9
19. Boroditsky R, Guilbert E. Injectable Medroxyprogesterone acetate for contraception. *J Soc. Obstet Gynecol Can* 2000 August; 22 (8): 616-20
20. Williams FMK, Spector TD. Recent advances in the genetics of osteoporosis: Review article. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2006; 6(1): 27-35
21. Reneland RH. Association between a variation in the phosphodiesterase 4D gene and bone mineral density. *BMC Med Gen* 2005, 6: 9
21. Liu PY, Lu Y, Long JR, Xu FH, Shen H, Recker RR, Deng HW. Common variants at the PCOL2 and Sp1 binding sites of the COL1A1 gene and their interactive effect influence bone mineral density in Caucasians. *J M Genetics* 2004; 41: 752-7
22. Stewart TL, Jin H, McGuigan FEA, Albagha OME, Giralt NG, Bassiti A, Grinberg D, Balcells S, Reid DM, Ralston SH. Haplotypes defined by promoter and intron 1 polymorphisms of the COL1A1 gene regulate bone mineral density in women. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 3575-83
23. Ralston SH. Genetic control of susceptibility to osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*, June 2002; 87(6): 2460-6
24. Uitterlinden AG, Burger H, Huang Q, Yue F, McGuigan FEA, Grant SFA, Hofman A, Van Leeuwen J, Pols HAP, Ralston SH. Relation of alleles of the collagen type 1A1 gene to bone density and the risk of osteoporotic fractures in postmenopausal women. *N Engl J Med* 1998; 338: 1016-21
25. Tang OS, Tang G, Yip PSF, Li B. Further evaluation on long-term depot medroxyprogesterone acetate use and bone mineral density: a longitudinal cohort study. *Contraception* 2000 Sep; 62: 161-4
26. Kaunitz AM. Injectable contraception. Available from: <http://www.mdconsult.com/Accessed>, Desember 1, 2000
27. Bhathena RK. The long-acting progestogen- only contraceptive injections: an update. *The Br J Obstet Gynaecol* 2001 Jan; 10: 3-8
28. Ralston SH, Mann V. Meta-analysis of COL1A1 Sp1 polymorphism in relation to bone mineral density and osteoporotic fracture. 2003; 32(6): 711-7
29. Efstathiadou Z, Tsatsoulis A, Ioannidis JPA. Association of Collagen 1 alpha 1 Sp1 Polymorphism with the risk of fractures: A Meta-Analysis. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 1586-92
30. Mann V, Hobson EE, Li B, Stewart TL, Grant SFA, Robins SP, Aspden RM, Ralston SH. A COL1A1 Sp1 binding site polymorphism predisposes to osteoporotic fracture by affecting bone density and quality. *J Clin Invest* 2001; 107: 899-907
31. Todhunter CE, Craggs AS, Bartram SA, Donalson PT, Daly AK, Francis RM, Mansfield JC, Thompson NP. Influence of IL-6, COL1A1, and VDR gene polymorphisms on bone mineral density in Crohn's disease. *Gut* 2005; 54: 1579-84
32. Nguyen TV, Esteban LM, White CP, Grant SF, Center JR, Gardiner EM, Eisman JA. Contribution of the collagen 1 alpha 1 and vitamin D receptor genes to the risk of hip fracture in elderly women. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 6575-9