

TERAPI GEN

dr. Yasavati Kurnia, MS*, Stephanus Taniwidjaja,** Steven Sakasamita,**
Marcel Antoni**

Abstract

Human gene therapy has always been a controversial subject. Gene therapy may ameliorate some human genetic diseases in the future, for this reason we believe that research directed at the development of techniques for gene therapy should be continued.

The essential features of human gene therapy are the delivery of a remedial gene and its expression in a cell type or tissue, that cures a disease without risk to either those administering the therapeutic agent or those receiving it.

The development of effective treatment for genetic disease has been elusive because, in many instances, the appropriate gene product cannot be provided to a patient. Two main approaches for gene-based therapeutic treatment of various diseases have been developed : ex vivo gene therapy and in vivo gene therapy.

Beside some ethics consideration on human gene therapy, to date gene therapy in general has not been particularly successful, however, as more information accumulates from ongoing studies, it is inevitable that it will become the standard mode of treatment for many diseases.

Key word: human gene therapy- ex vivo and in vivo gene therapy.

PENDAHULUAN

Perkembangan dan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi kedokteran sekarang ini telah menghantarkan kita pada suatu cara pengobatan baru, yang diharapkan dapat menjadi suatu pengobatan yang efektif dan efisien di masa depan. Para ahli terus berusaha dan mencoba

untuk menemukan cara pengobatan terbaik, hingga saat ini kita dimungkinkan untuk dapat memodifikasi gen dengan tujuan mengobati kelainan, dan mengembalikan fungsi sel ke keadaan normal.

* Dosen Bagian Farmakologi FK Ukrida

** Mahasiswa FK Ukrida

Terapi gen merupakan suatu cara pengobatan yang canggih dalam tingkat molekuler. Ada lebih dari 4.000 penyakit genetik yang telah ditemukan dan menyebabkan penderitaan bagi manusia dan generasi selanjutnya. Untuk itu, terapi gen berusaha menemukan kelainan pada gen yang menyebabkan penyakit tersebut, kemudian memperbaikinya atau menggantikannya dengan gen yang normal, sehingga orang tersebut dapat sembuh dan generasi selanjutnya dapat terhindar dari penyakit genetik, dan bahkan memusnahkan penyakit genetik dari muka bumi ini. Akan tetapi, menerapkan terapi gen dalam upaya menyembuhkan tidaklah semudah yang dibayangkan, ada banyak hal yang menyulitkan penerapannya. Mulai dari segi teknik yang membutuhkan pengalaman serta keterampilan dari orang yang melakukannya, upaya pengembangan vektor yang aman dan efektif, sampai permasalahan etika yang ada di seputar terapi gen. Namun, bila terapi gen dapat diwujudkan, maka terapi gen dapat menjadi alat penyembuh yang ampuh untuk segala penyakit, baik penyakit genetik, penyakit infeksi, maupun penyakit-penyakit lainnya.

SEJARAH PERKEMBANGAN TERAPI GEN

Penemuan penting yang berhubungan dengan munculnya teknologi terapi gen, diawali melalui sebuah studi tentang virus RNA (*Ribose Nucleic Acid*) penyebab tumor pada awal tahun 1970 oleh Temin dan Baltimore. Pada pertengahan tahun yang sama, Boyer dan Cohen juga mengemukakan penemuan terbaru mereka mengenai DNA (*Deoxyribose Nucleic Acid*) rekombinan.⁽¹⁾

Pada tahun 1983, tim ahli dari *Baylor College of Medicine* di Houston, Texas, mengemukakan bahwa teknologi terapi gen di kemudian hari dapat digunakan untuk mengobati penyakit *Lesch-Nyhan*, suatu kelainan saraf yang jarang terjadi. Para ahli mengadakan eksperimen dengan menyuntikkan gen penghasil enzim (protein spesifik) ke dalam sekelompok sel untuk bereplikasi. Kemudian sel-sel tersebut dimasukkan ke dalam tubuh penderita *Lesch-Nyhan*, sehingga diharapkan akan dapat mengatasi defisiensi enzim pada penderita.⁽²⁾ Hal ini juga didukung oleh pendapat beberapa ahli lainnya; Mann, Mulligan, dan Baltimore, yang menyatakan bahwa koreksi terhadap gen yang tidak sempurna dapat dilakukan dengan cara mentransfer materi genetik (gen) yang baru ke dalam sel, yang difasilitasi oleh virus. Dengan menggunakan teknik tersebut, pada tahun 1985 dilaporkan bahwa sebuah gen telah berhasil ditransfer ke dalam seekor anak tikus. Dan akhirnya, pada bulan September 1990, eksperimen dengan menggunakan teknik terapi gen untuk pertama kalinya dilakukan pada manusia.⁽¹⁾

Pada tahun 1986, seorang bayi bernama Laura Cay Boren, yang menderita SCID (*Severe Combine Immune Deficiency*), suatu penyakit genetik autosomal resesif, dimana penderitanya mengalami infeksi yang berulang terus-menerus. Infeksi yang berulang ini disebabkan karena terjadinya defisiensi enzim *Adenosin Deaminase* (ADA), yang dalam keadaan normal berperan dalam pembentukan dan perombakan sel T (imunitas seluler). Dalam keadaannya yang semakin memburuk, rumah sakit tempat ia dirawat, yaitu *Duke University Medical Center*, memutuskan untuk menyuntikkan PEG-ADA

(*Polyethylene Glycol-Adenosin Deaminase*) dengan tujuan mengatasi defisiensi ADA dalam tubuhnya. Ternyata hal yang mengejutkan terjadi; kadar ADA dalam tubuh Laura Cay Boren perlahan-lahan mulai meningkat. Tiga bulan setelah menjalani pengobatan, zat toksin dalam darahnya lenyap, dan pada tahun 1988 Laura Cay Boren sudah normal seperti teman-temannya.⁽³⁾

Pada tanggal 14 September 1990, di *National Institutes of Health in Bethesda, Maryland*⁽⁴⁾; Ashanti DaSilva (4 tahun) menerima transfusi sel darah putih miliknya, yang telah disisipi gen penyandi ADA. Tidak lama kemudian, seorang anak lainnya yang bernama Cynthia Cutshall juga mendapat terapi yang sama, dengan kasus yang sama. Setahun kemudian, keadaan keduanya relatif membaik, dan berangsur sehat.⁽³⁾ Pasien perempuan yang berumur 4 tahun itu menderita defisiensi ADA⁽⁵⁾, atau yang disebut penyakit 'Bubble Boy'. Penyakit ini disebabkan oleh terjadinya mutasi gen penyandi enzim ADA,

dimana enzim ADA tidak diproduksi, dalam keadaan ini toksin intraseluler akan meninggi dan membunuh sel sistem kekebalan tubuh.⁽⁵⁾ Sel sumsum tulang anak itu ditransformasikan dengan menggunakan retrovirus yang mengandung gen ADA yang fungsional. Sel yang telah diperbaiki dikembalikan lagi ke sumsum tulang pasien tersebut.⁽⁴⁾

Sepasang suami istri, Crystal dan Leonard Goba hampir kehilangan putra mereka yang baru berusia 5 bulan., yang menderita defisiensi ADA. Untuk sementara, bayi mereka mendapat terapi sel darah (darah mereka sendiri) yang sudah disisipi gen penyandi ADA; juga suntikan PEG-ADA untuk menjaga jika teknik terapi gen gagal. Ternyata terapi ini berhasil, walaupun jumlah sel T meningkat dengan lambat namun bayi mereka akhirnya sembuh, dan di akhir tahun 1995, 3 dari 100 sel T dalam tubuhnya mengandung gen ADA.⁽³⁾

Tabel 1
Terapi untuk 10 penyakit karena gangguan gen tunggal

Produk gen	Gejala penyakit	Frekuensi	Terapi kini	Prognosis
Adenosin Deaminase	<i>Severe combined immunodeficiency</i> Sel T dan B hilang	1:1000.000	Transplantasi sumsum tulang & penggantian Adenosin Deaminase	Tanpa terapi fatal dlm umur 2 tahun
Reseptor LDL	Hiperkolesterol Familial, Peningkatan serum kolesterol & penyakit koroner	1:500 (<i>heterozygote</i>)	Diet, obat-obatan transplantasi liver	Beberapa perbaikan klinik
Glukoserebrosidase	Penyakit <i>Gaucher</i> Akumulasi glukosidase pada makrofag menyebabkan kerusakan limpa, liver dan tulang	1:2.500 <i>ras Jewish</i>	Terapi simptomatik pengangkatan limpa Antibiotik Perbaikan kerusakan sumsum tulang Transplantasi ss. tulang <i>Enzyme replacement</i>	Beberapa perbaikan klinik

Faktor pembekuan VIII	Hemofilia A Gangguan protein plasma yang menyebabkan gangguan pembekuan darah Perdarahan internal ke dalam sendi Perdarahan hebat setelah luka	1:10.000 (laki-laki)	Transfusi konsentrat faktor VIII	Perpanjangan <i>life expectancy</i> memerlukan terapi kontinu, risiko infeksi virus dari transfusi
Fenilalanin Hidroksilase	Fenilketonuria Kelebihan fenilalanin pada neonatus menyebabkan retardasi mental	1:10.000	Diet rendah fenilalanin	Baik pada beberapa kasus
α -1 Antitripsin	Emfisema Defisiensi protein protease inhibitor, Kerusakan paru-paru Sirosis hati	1:3.500	<i>Replacement</i> terapi Menurunkan risiko lingkungan	Progresivitas penyakit diperlambat tetapi tidak berhenti
<i>Cystic fibrosis</i> Transmembrane	<i>Cystic fibrosis</i> <i>Multi system disease</i> Insufisiensi pankreas Hambatan pemapasan	1:2.500	Antibiotik, <i>physical clearing</i> dari paru diet	Fatal dalam usia 20 tahun
Ornithine	Hyperamonemia Gangguan siklus urea	1:40.000	Diet rendah protein Suplemen arginin Obat, transplantasi liver	Bentuk lanjut: baik
Dystrophin	<i>Duchene muscular dystrophy</i> , kelemahan otot	1:7.500	Terapi suportif, nutrisi baik	Fatal pada
β -globin	<i>Sickle-cell disease</i> Anemia kronik Kerusakan limpa, liver, ginjal & otak	1:500 (<i>heterozygote</i>)	Transfusi darah, obat transplantasi sumsum tulang	Gejala berkurang

Tidak semua kisah terapi gen berakhir dengan keberhasilan; ada juga yang berakhir dengan kegagalan, seperti yang dialami oleh Jesse Gelsinger. Ia menderita kelainan genetik, OTC (*Ornithine Transcarbamylase Deficiency*). Teknik terapi gen dengan menggunakan Adenovirus sebagai agen pembawa gen yang akan disisipkan ke dalam DNA. Virus disuntikkan melalui arteri dengan target sel-sel hepar, namun keadaan Jesse memburuk. Otak dan organ-organ

vital lainnya tidak berfungsi dan dinyatakan meninggal dunia. Dari hasil otopsi ditemukan bahwa sebelum mendapat terapi, Jesse ternyata sudah terinfeksi Parvovirus. Lagipula, Adenovirus yang dimasukkan ternyata tidak masuk ke dalam hepatosit, melainkan ke dalam makrofag sehingga menyebabkan peningkatan Interleukin, yang pada akhirnya memicu munculnya reaksi inflamasi (respons imun).⁽³⁾

Percobaan terapi gen pada tahun 1999 dinyatakan sukses dalam memperbaiki keadaan SCID yang disebabkan oleh defek reseptor sitokin (dalam subunit tertentu disebut γc), seperti yang dilaporkan pada tahun 2000 oleh para ahli fisiologi di Perancis, Italia, dan Inggris. Para ahli memasukkan gen subunit γc (*gamma copy*) reseptor sitokin yang telah diperbaiki ke dalam sel CD34+. Sel yang telah ditransformasikan ini dikembalikan ke sumsum tulang pasien. Fungsi dari sistem imun mengalami peningkatan dan hampir 4 tahun kemudian sebagian besar anak-anak tersebut dapat hidup normal.⁽⁴⁾

DASAR TERAPI GEN

Terapi gen, secara sederhana dapat didefinisikan sebagai transfer materi genetik baru ke dalam sel-sel tubuh, yang hasilnya tentu saja harus memberikan keuntungan terapeutik.

Prinsip penting dari terapi gen sesuai dengan definisi di atas, yaitu mengubah susunan gen yang salah, yang menyebabkan sel-sel tubuh tidak berfungsi sebagaimana seharusnya, menjadi berfungsi kembali secara normal.⁽¹⁾ Terapi gen dilakukan dengan cara menyisipkan gen fungsional ke dalam DNA, sehingga akan meningkatkan produksi dari jumlah protein yang kurang.⁽⁶⁾

Secara umum, para ahli membaginya dalam 2 kategori, yaitu jenis *germ* dan somatik.

Terapi gen tipe germ, adalah dengan mengubah DNA suatu gamet atau sel telur matang yang siap dibuahi. Sebagai hasilnya, semua sel tubuh individu tersebut akan mengalami perubahan, yang selanjutnya akan diturunkan kepada generasi berikutnya. Jika terapi gen hanya ditujukan untuk memperbaiki

sel-sel tubuh yang tidak berfungsi normal, karena mengalami kelainan genetik (kelainan susunan gen), maka terapi gen ini disebut **terapi gen somatik**. Perubahan gen yang disebabkan terapi gen somatik ini tidak diturunkan kepada generasi berikutnya.

Berikut ini adalah lokasi-lokasi terapi gen somatik:

1. Paru

Beberapa aerosol yang digunakan untuk mengobati penderita kistik fibrosis berfungsi untuk mengganti gen yang abnormal, tetapi perbaikan ini sifatnya hanya sementara dan pada lokasi tertentu. Kelainan lain pada paru yang dapat diperbaiki dengan terapi gen adalah *Alpha 1-Antitrypsin Deficiency*. Ketiadaan enzim ini akan menyebabkan peningkatan jumlah enzim lain yaitu elastase. Penumpukan enzim elastase akan merusak jaringan paru.

2. Jaringan saraf

Kebanyakan penyakit dan luka efeknya mengenai sistem saraf, misalnya *Alzheimer*, *Huntington*, *Parkinson*, *Amyotrophic Lateral Sclerosis*, dan lain-lain. Walaupun demikian, tetap saja terapi gen pada jaringan saraf bukan merupakan hal yang mudah, karena sel saraf tidak beregenerasi. Akan tetapi terapi gen dapat diaplikasikan pada sel yang lain, misalnya fibroblas (yang berperan dalam menghasilkan *Nerve Growth Factor* dan enzim tertentu yang akan menjadi pemicu dihasilkannya neurotransmitter).

3. Hepar

Contoh terapi gen pada hepar adalah dengan menyisipkan gen penyandi reseptor LDL (*Low Density Lipoprotein*), pada penderita familial-hiperkolesterolemia.

4. Otot

Contoh terapi gen pada jaringan otot adalah pada *Duchenne Muscular Dystrophy* (DMD); dengan memotong gen *dystrophin* sampai ukurannya menjadi kecil, sehingga dapat disisipkan pada sel-sel muda.

5. Endotelium

Dengan melakukan manipulasi genetik terhadap jaringan endotelium dapat diproduksi protein yang dibutuhkan. Contoh, pada penderita diabetes dapat diimplantasikan kapiler hasil rekayasa terapi gen yang dapat menghasilkan insulin. Pada penderita hemofilia juga dapat diimplantasikan jaringan hasil rekayasa terapi gen, yang dapat menghasilkan faktor-faktor pembekuan yang diperlukan. Endotelium biasanya diimplantasikan bersama kolagen, yang berfungsi sebagai jaringan penyokong; juga bersama dengan faktor-faktor angiogenesis untuk menstimulasi pertumbuhan kapiler selanjutnya.

6. Kulit

Dari seseorang hanya perlu diambil sebagian kecil dari kulitnya, lalu pada kulit tersebut dilakukan rekayasa genetik. Kulit tadi akan tumbuh melebar dalam waktu 3 minggu. Kemudian kulit tadi dapat dilekatkan kembali (*skin graft*), pada tubuh orang tersebut.⁽³⁾

TEKNOLOGI TERAPI GEN

Pengobatan penyakit-penyakit genetik sangat sulit dilakukan, karena produk dari suatu gen yang dianggap sudah tepat sekalipun belum tentu dapat diberikan pada pasien. Oleh sebab itu, para ahli berusaha untuk menemukan suatu terobosan baru guna mengatasi masalah tersebut.

Hasilnya, mereka menemukan bahwa gen yang normal biasanya dalam bentuk cDNA (*DNA copy*); dapat diidentifikasi dan diklon, untuk mengoreksi kelainan pada pasien.⁽⁷⁾

Telah dikembangkan dua macam metode utama dalam terapi gen, yaitu secara *ex vivo* (di luar tubuh pasien) dan *in vivo* (di dalam tubuh pasien).⁽⁸⁾

A. Terapi gen secara *ex vivo*

Terapi gen ini melibatkan langkah-langkah berikut⁽⁷⁾:

1. Mengambil sel-sel yang diperlukan dari tubuh pasien.
2. Menumbuhkan sel-sel tersebut.
3. Mengoreksi kerusakan genetik; dengan cara mentransfer materi genetik yang dibutuhkan untuk memperbaiki fungsi sel ke dalam sel-sel yang telah diisolasi.
4. Menyeleksi kembali dan menumbuhkan sel-sel hasil koreksi secara genetik.
5. Memasukkan kembali sel-sel tersebut ke tubuh pasien.

Sel-sel sengaja diambil dari tubuh pasien dengan tujuan agar tidak ada reaksi imun pada pasien tersebut. Cara ini hanya dapat dilakukan pada sel-sel yang bisa diambil dari tubuh pasien, misalnya seperti sel-sel hematopoiesis dan sel-sel kulit.⁽⁸⁾

Alternatif lain adalah dengan menggunakan hasil rekayasa genetika, dengan menggunakan sel yang bukan berasal dari pasien itu sendiri; sel tersebut dilapisi dengan selapis membran sehingga menyerupai sebuah kapsul; untuk melindungi sel tersebut dari respons imun, sehingga gen yang ditransfer ke dalam sel tersebut tetap dapat bekerja dengan baik.⁽⁷⁾ Hal ini membuat terapi gen secara *ex vivo* tidak hanya

terbatas menggunakan sel pasien saja; sehingga teknik ini dapat digunakan pada pasien-pasien dengan penyakit-penyakit lain. Namun teknik ini memerlukan biaya yang besar; lagipula sel-sel yang diambil terkadang sulit untuk diimplantasikan kembali pada pasien.

B. Terapi gen secara *in vivo*

Pada metode *in vivo*, digunakan vektor sebagai "pembawa" materi genetik yang diinginkan; yang akan mengubah genom dari sel yang dimaksud. Vektor dimasukkan ke dalam tubuh pasien dengan berbagai cara; di antaranya dengan menyuntikkan secara intravena, intramuskular, atau melalui inhalasi. Vektor tersebut kemudian akan "mengirimkan" materi genetik ke dalam sel yang diinginkan.⁽⁹⁾

Cara ini memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan cara *ex vivo*. Misalnya pada jaringan dimana sel-selnya tidak dapat dikultur *in vitro* dalam jumlah yang cukup, contohnya sel-sel otak.⁽⁸⁾ Keunggulan lainnya adalah jika sel-sel yang dikultur itu tidak bisa diimplantasi secara efektif pada pasien secara *ex-vivo*.⁽⁸⁾ Pada metode ini vektornya dapat berupa viral atau nonviral; dimana nantinya vektor ini akan membawa materi genetik yang diperlukan ke jaringan yang dituju.

Baik terapi gen secara *ex vivo* maupun *in vivo* memiliki prinsip kerja yang sama, yaitu

dengan menambahkan atau menghambat dan memperbaiki gen.

1. Menambahkan gen

Penyakit-penyakit yang bersifat autosomal resesif dan *sex-linked* resesif dapat diperbaiki dengan cara ini, karena penyakit-penyakit ini pada dasarnya disebabkan oleh kurangnya produk dari suatu gen.

2. Menghambat gen dan memperbaiki gen

Prinsip utamanya adalah untuk menghentikan ekspresi gen dari alel yang bersifat mutan, dan mengoreksi mutasi yang ada.

a. *Antisense*.

Fungsinya untuk mengurangi ekspresi gen. Dilakukan dengan cara memasukkan utas tunggal dari DNA, RNA, atau derivat sintetik dari asam nukleat yang merupakan komplemen untuk pasangan gen yang dituju.

b. *Ribozymes*.

Dengan ini dapat mengurangi ekspresi gen, dengan memanfaatkan sifat katalitik dari RNAs.

c. *Targeted homologous recombination*.

Dengan ini dapat memperbaiki gen yang rusak.⁽⁹⁾

Tabel 2
Beberapa terapi gen yang telah dilaksanakan pada manusia

Terapi Gen	Kondisi	Sel Target
Adenosin Deaminase	Defisiensi Adenosin Deaminase	limfosit, sel sumsum tulang
Tumor nekrosis factor	Melanoma	<i>tumor-infiltrating lymphocyte</i> Sel tumor <i>autologus</i>
Interleukin-2	Melanoma, glioblastoma, <i>renal Cell cancer</i>	Sel tumor <i>autologus</i> , sel tumor
Faktor IX	Hemofilia B	<i>Autologus skin fibroblast</i>
LDL Reseptor	Hiperkolesterolemia	<i>Autologus liver cells</i>
<i>Histocompatibility locus Antigen class I-B7 plus B2 mikroglobulin</i>	Melanoma, <i>colorectal cancer renal cell cancer</i>	Sel tumor
Herpes simplex virus Thymidine kinase	Glioblastoma, AIDS, Kanker Ovarium	Sel tumor, T cells
<i>Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator</i>	<i>Cystic fibrosis</i>	<i>Nasal and airway epithelium</i>
<i>Multidrug resistance</i>	Kanker Payudara	<i>Blood CD34+ cells</i>
<i>Granulocyte-macrophag Colony-stimulating factor</i>	Melanoma	Sel tumor
Interleukin-1 reseptor Antagonis	Arthritis	<i>Autologus fibroblast</i>
<i>Human CNTF</i>	<i>Amyotrophic lateral sclerosis</i>	<i>Encapsulated transduced Xenogenic cells</i>
P53	<i>Head and neck squamous Carcinoma</i>	Sel tumor
<i>Fanconi anemia C</i>	<i>Fanconi anemia</i>	Sel sumsum tulang

VEKTOR

Vektor digunakan untuk membawa materi genetik berupa gen terapeutik ke dalam sel target.⁽¹⁵⁾ Ada 2 cara utama untuk 'mengantarkan' gen, yaitu dengan menggunakan virus (vektor viral), dan tidak menggunakan virus (vektor nonviral).

A. Vektor Viral

Vektor yang dipilih untuk transfer gen, tergantung dari jaringan targetnya; dan apakah dilakukan secara *in vivo* atau *ex vivo*.⁽⁸⁾ Mungkin metode yang paling baik adalah dengan vektor viral; karena tingkat keefisienan virus yang tinggi untuk melakukan transduksi pada manusia.⁽⁹⁾ Ada beberapa vektor viral yang saat ini sedang diteliti dan dikembangkan oleh para ahli, antara lain:

a. Vektor Retrovirus

Retrovirus adalah virus RNA yang mempunyai kemampuan melakukan transkripsi balik, sehingga virus ini mampu membentuk DNA.⁽⁹⁾ Virus ini sangat efisien dalam mentransfer DNA ke dalam sel; dan DNA yang telah terintegrasi akan tetap stabil sehingga memberikan kesembuhan yang permanen.⁽⁸⁾ Virus ini tidak mempunyai kemampuan untuk bereplikasi, sehingga kemungkinannya untuk bertambah banyak dan menginfeksi jaringan yang bukan targetnya menjadi lebih kecil. Kerugiannya adalah jika retrovirus mengganggu gen tempat insersi, yang mengakibatkan gen kehilangan aktivitasnya atau malah menimbulkan ekspresi gen yang tidak seharusnya; dan jika gen tersebut adalah gen yang mensupresi tumor atau proto-onkogen

maka bisa dibayangkan apa yang akan terjadi.⁽⁹⁾ Retrovirus hanya dapat mentransduksi sel yang membelah tak lama setelah infeksi, jadi hanya ada persentase yang kecil dari sel pada jaringan somatik, yang dapat menjadi sel targetnya,^(8,9) hal ini membuat keefisienan retrovirus untuk mengtransfer gen terapi menjadi sangat terbatas.⁽⁹⁾ Retrovirus paling sering digunakan secara *ex vivo*.⁽⁸⁾ Kemampuannya yang hanya mentransduksi sel yang membelah menjadi hal yang sangat menguntungkan, karena hal ini dapat digunakan untuk terapi gen pada kanker.⁽⁸⁾

b. Vektor Adenovirus

Adenovirus adalah virus flu (virus DNA) yang biasanya menginfeksi saluran pernapasan.⁽⁹⁾ Keuntungan terbesar menggunakan vektor ini adalah karena dapat diproduksi dengan titer yang sangat tinggi; yang berarti akan ada banyak vektor adenovirus yang membawa gen terapeutik dalam volume yang sedikit.^(8,9) Vektor ini dapat menginfeksi sel yang tidak sedang membelah.⁽⁹⁾

Kerugiannya, vektor ini tidak berintegrasi ke dalam genom pasien, sehingga ekspresi dari gen terapi hanya dapat bertahan dalam periode yang singkat.⁽⁹⁾ Kerugian lainnya, vektor ini dapat menginduksi terjadinya inflamasi yang signifikan dan respon imun pasien.⁽⁸⁾ Vektor ini dapat digunakan untuk terapi gen secara *in vivo* maupun *ex vivo*.⁽⁹⁾

c. Vektor Adeno-Associated Virus

Adeno-Associated Virus (AAV) adalah virus DNA yang mempunyai rantai tunggal. Vektor ini membutuhkan virus penolong

untuk dapat menginfeksi sel.⁽⁸⁾ Virus penolong bisa berupa adenovirus maupun *Herpes Simplex Virus*.^(8,9) Jika virus penolong tidak ada, maka AAV akan berintergrasi ke genom manusia, yang biasanya pada lokus tertentu pada kromosom 19.⁽⁷⁾ AAV dapat digunakan untuk terapi gen secara *in vivo* maupun *ex vivo*.⁽⁹⁾ AAV yang mempunyai rantai tunggal ini sangat berguna pada strategi pengganti gen yang akan berguna untuk target *homolog rekombinant*.⁽⁹⁾ AAV juga memberikan derajat keamanan yang cukup tinggi.⁽⁸⁾

d. **Vektor *Herpes Simplex Virus***

Vektor *Herpes Simplex Virus* (HSV) adalah vektor khusus untuk susunan saraf pusat (SSP).⁽⁸⁾ HSV bersifat laten pada sel saraf (neuron).⁽⁷⁾ Peran utama dari vektor HSV adalah untuk menghantarkan gen terapi ke dalam neuron pada penyakit-penyakit neurologis misalnya Parkinson; juga dapat digunakan untuk menyembuhkan tumor SSP.⁽⁸⁾

B. **Vektor Nonviral**

a. **Liposom**

Liposom adalah alat penghantar yang berbentuk sferis, terdiri atas *lipid bilayer* sintetik, menirukan struktur biologis dari membran sel. DNA yang bertindak sebagai gen terapeutik ini disiapkan secara *in vitro* dengan liposom, dan digunakan secara langsung untuk mentransfer DNA ke jaringan target yang sesuai secara *in vivo*. Lapisan *lipid* yang memungkinkan DNA tetap bertahan secara *in vivo* itu kemudian terikat dengan sel, dan mengalami endo-

sitosis ke dalam sel. Liposom kationik telah menjadi alat penghantar yang paling populer untuk terapi gen secara *in vivo*. Tetapi keefisiensian untuk mentransfer gen ini sangat kecil, dan DNA yang merupakan gen terapeutik ini tidak dirancang untuk berintergrasi ke dalam kromosom DNA, sehingga ekspresi gen terapi ini menjadi sangat singkat.⁽⁸⁾

b. **Suntikan langsung**

Untuk kasus-kasus tertentu, DNA bisa disuntikkan secara langsung ke jaringan tertentu misalnya otot,⁽⁸⁾ tetapi hal ini hanya akan menimbulkan ekspresi dari gen terapeutik yang sangat singkat.⁽⁹⁾ Aplikasi dari cara ini terbatas karena hanya dapat dilakukan pada beberapa jaringan tertentu, dan membutuhkan sejumlah besar DNA.⁽⁴⁾

c. **Molekul *dendrimer***

Molekul *dendrimer* adalah sejenis bahan polimer (zat sintetik atau alami yang mempunyai berat molekul besar dan terbentuk dari molekul yang lebih kecil dari zat yang sama) yang 'dibuat' di laboratorium dengan menggabungkan molekul-molekul kecil. Di laboratorium, *dendrimer* memperlihatkan kemampuannya untuk menghantarkan bahan genetik ke dalam sel manusia.⁽²⁾

PENYAKIT GENETIK DAN NONGENETIK

Keberhasilan teknologi terapi gen diawali melalui kisah seorang anak penderita defisiensi ADA, penderita kistik fibrosis, dan kelainan

genetik lainnya. Teknik ini telah memberikan optimisme dengan mengubah susunan gen yang mengalami kelainan. Dengan berjalannya waktu, semangat menjadikan terapi gen sebagai alat untuk menyembuhkan penyakit lain semakin berkembang. Penyakit-penyakit yang telah diujicobakan antara lain tumor otak, hemofilia, kanker hati, kanker prostat, kelainan hemoglobin, hiperlipidemia, kelainan metabolisme, AIDS (*Acquired Immuno Deficiency Syndrome*), kanker usus besar, melanoma, tumor solid, transplantasi sumsum tulang untuk leukemia, mutasi titik sumsum tulang, kanker leher dan kepala, asthma, atrofi fokal otot, penyakit *host* dan *transplant*, kanker payudara dan ovarium, penyakit kardiovaskuler, kanker paru *non-small cell*, hiperkolesterolemia, penyakit infeksius dan, penyakit neurodegeneratif.⁽⁵⁾

Terapi gen untuk penyakit-penyakit genetik secara konsep akan lebih mudah pada penyakit yang disebabkan oleh gen resesif. Sedangkan terapi gen untuk penyakit-penyakit nongenetik (misalnya kanker) pada prinsipnya terbagi menjadi dua, yaitu secara *ex vivo* atau *in vivo*. Pada terapi gen secara *ex vivo* untuk penyakit nongenetik yang paling sering digunakan adalah sel-sel imun.⁽⁶⁾

Kegunaan lainnya dari teknik genetik adalah memungkinkan para ahli meningkatkan efektivitas vaksin, dan melakukan pengembangan-pengembangan terhadap riset-riset sebelumnya. Dengan menggunakan teknik baru dalam dunia bioteknologi, para ahli mengembangkan vaksin untuk melawan penyakit hepatitis B dan meningitis.⁽⁵⁾

Tuli adalah masalah besar masyarakat: jutaan orang di dunia mengalami ketulian setiap

tahunnya. Hal ini terjadi karena sel rambut dalam telinga rusak karena suara yang keras, antibiotik, dan usia lanjut. Sel rambut seperti miniatur mikrofon, menerima vibrasi dari cairan telinga dan menghantarkannya sebagai impuls saraf. Terapi bertujuan menumbuhkan kembali sel rambut di koklea. Setelah pengobatan, peneliti menggunakan elektroda di sekitar kepala hewan untuk merangsang saraf pendengaran. Terapi gen untuk mengobati ketulian pertama kali diujicobakan pada babi guinea, dan meningkatkan harapan hal yang sama dapat bekerja pada manusia.⁽¹⁰⁾

Pengobatan kanker dengan terapi gen sangat sulit. Walaupun demikian, terapi gen dapat memberikan kontribusi dalam pengobatan kanker secara konvensional. Caranya adalah dengan menyisipkan gen ke dalam sel limfosit untuk meningkatkan respons imun, melawan tumor, misalnya pada melanoma maligna.⁽¹¹⁾ Pada melanoma maligna, yang bisa menjadi sel target adalah fibroblas dengan metode *ex-vivo*, dengan retrovirus sebagai vektor gen *IL2* (*Interleukin 2*).⁽⁶⁾ Cara lainnya adalah dengan menyisipkan gen penghambat tumor untuk mencegah pembelahan sel tumor – cara ini dapat digunakan untuk kanker payudara, kanker prostat, kanker paru, dan kanker kandung kemih.⁽¹¹⁾

Penyakit *Alzheimer* membunuh sel-sel otak yang mengoordinasi pesan melalui sistem saraf. Gen yang disisipkan menyandikan faktor pertumbuhan saraf atau *Nerve Growth Factor* (*NGF*), protein yang menjaga sel tetap hidup dan memfasilitasi sinyal di antaranya. Memasukkan kopi dari gen untuk faktor pertumbuhan seluler ke dalam otak manusia dengan penyakit *Alzheimer*, akan memperlambat proses degeneratif sel.⁽¹²⁾

Penderita kistik fibrosis mengalami kekurangan gen yang dibutuhkan untuk membentuk protein pengatur mineral. Teknik terapi gen dapat memperbaiki kelainan ini dengan menggunakan *adenovirus* untuk menghantarkan gen normal yang disebut *Cystic fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Factor* (gen *CTRF*). Yang menjadi sel targetnya adalah epitel saluran pernapasan dengan menggunakan terapi gen secara *in vivo*.⁽⁸⁾

Hiperkolesterolemia familial adalah ketidakmampuan memproses kolesterol yang menyebabkan penimbunan lemak pada dinding arteri. Teknik terapi gen yang digunakan untuk mengatasinya lebih rumit, karena meliputi pembedahan untuk pemindahan hati pasien. Gen yang telah diperbaiki yang akan menurunkan pembentukan kolesterol dimasukkan ke dalam sel hati lalu dikembalikan ke tubuh pasien.⁽²⁾ Yang menjadi sel targetnya adalah sel hati, dengan terapi gen secara *ex vivo* memakai *retrovirus* untuk menghantarkan gen reseptor LDL.⁽⁸⁾

Terapi gen juga diujicobakan pada AIDS. Gen yang memproduksi protein spesifik *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) telah diubah untuk merangsang fungsi sistem imun tanpa menyebabkan efek negatif, walaupun molekul HIV telah berada pada sistem imun. Cara lainnya adalah dengan menggunakan sel darah putih yang telah dimanipulasi secara genetik, untuk menghasilkan reseptor yang menarik HIV dan mengurangi kesempatan HIV bereplikasi.⁽²⁾

Penyakit *Gaucher* merupakan penyakit keturunan yang disebabkan oleh gen mutan yang menghambat produksi enzim glukoserebrosida. Terapi gen bertujuan memasukkan gen untuk menghasilkan enzim ini.⁽²⁾ Yang menjadi sel

targetnya adalah stem sel dari hemopoetik dengan cara *ex vivo* memakai *retrovirus* untuk menghantarkan gen terapinya yaitu GBA.⁽⁸⁾

Terapi gen juga dipikirkan untuk mengatasi masalah yang berhubungan dengan prosedur operasi yang disebut *ballon angioplasty*, untuk mencegah efek samping, caranya dengan melapisinya dengan gel. Gel ini mengandung vektor untuk gen yang dapat menurunkan respons penyembuhan berlebih.⁽⁵⁾

Terapi gen dapat digunakan untuk mengobati *rheumatoid arthritis* dan penyakit kronik lainnya. Peneliti dari *Pittsburg University* telah membuktikan bahwa terapi gen dapat membatasi reaksi inflamasi sendi. Meski aman, peneliti mengatakan ada cara yang lebih baik yaitu dengan memasukkan gen langsung ke jaringan yang terkena menggunakan *adenovirus*.⁽¹³⁾

Para ahli telah mengembangkan sebuah terobosan baru untuk mendiagnosis penyakit genetik, sebelum terjadinya implantasi embrio pada dinding uterus. Cara ini disebut *preimplantation diagnosis*, meliputi pengasingan ovum manusia dan mengadakan pembelahan hasil konseptus di cawan petri steril. Setelah konseptus membelah menjadi 6-16 sel, satu sel diambil untuk uji coba genetik. Hanya embrio dengan genetik normal yang diimplantasikan ke ibunya. Dengan menggunakan cara ini, penyakit genetik dapat dihindari, bahkan dihilangkan dari populasi.⁽¹⁴⁾

TERAPI GEN DALAM SUDUT PANDANG ETIKA

Sementara terapi gen memberi janji sebagai sebuah cara revolusioner dalam dunia

pengobatan modern; masalah etika juga merupakan hal penting yang harus diperhatikan. Pertanyaan yang seringkali muncul adalah pantaskah hal tersebut diujicobakan pada manusia, dimana ada kemungkinan hasil yang didapat tidak seperti yang diharapkan.⁽¹⁷⁾

Terapi Gen Somatik

Terapi gen somatik dapat dilihat sebagai sebuah metode perawatan kesehatan khusus. Dalam pengertian ini, tidak ada masalah pelanggaran etika jika hanya sebatas memasukkan gen penyandi protein penting yang kurang pada pasien; gen tersebut akan merangsang produksi protein yang diperlukan tubuh, agar semua proses fisiologi dan biokimia tubuh berfungsi normal.

Masalahnya adalah optimisme yang salah dari orang-orang yang ikut ambil bagian (para ahli, pekerja kesehatan, masyarakat kedokteran, pemerintah, dan perusahaan bioteknologi komersial). Sikap menahan diri untuk tidak mempromosikan secara berlebihan hasil penemuan, produk, atau obat sangat diperlukan untuk mencegah pengharapan palsu dari masyarakat.

Terapi gen jenis *Germ*

Pada kenyataannya, perubahan genetik pada sel reproduksi atau perubahan yang dibuat pada embrio muda sebelum tingkat diferensiasi sel reproduktif dan nonreproduktif, akan berakibat pada semua keturunan orang tersebut. Hal ini akan menjadi permasalahan etika.

- Apakah kita menghormati generasi selanjutnya, hak asasinya, kesehatan, dan lainnya?

- Dapatkah kita mengetahui efek jangka panjang sebelum kita melakukannya?

Dalam hal teknik, permasalahannya adalah alasan terminasi dari kehamilan atau mengabaikan embrio yang tidak berguna dalam penelitian ini dapat diterima secara etika dan medik, dan merupakan suatu respons wajar dari masyarakat. Perlu diberikan pembelajaran etika pada profesi medik yang heterodoks. Untuk sebagian orang, masalah moral ini merupakan hal yang penting.⁽⁵⁾

Terapi gen jenis *Germ* belum dilakukan pada manusia karena adanya alasan etika dan kurangnya teknologi yang dibutuhkan untuk terapi ini. Ada tiga alasan utama yaitu mengenai kebutuhan terapi; pertanyaan mengenai etika dari memodifikasi sel-sel mulai pada awal terjadinya zigot, dan teknologi yang masih kurang memadai.⁽⁸⁾

Apakah terapi gen jenis *Germ* dapat digunakan untuk menghilangkan kelainan genetik tertentu seperti *Huntington's Chorea*. Sekalipun secara teknik dapat dilakukan, akan sulit untuk diperkirakan mungkinkah hanya digunakan untuk beberapa kasus yang jarang, tentunya mengundang kekhawatiran dari segi etika.

Lebih jauh lagi, pengalaman menunjukkan bahwa bukan hanya masalah bagaimana para ahli mendidik masyarakat. Seringkali kepercayaan dan komunikasi juga berperan dalam pemahaman.

Sekarang ini penelitian bagi teknik genetik ini sangat diatur di banyak negara barat. Di Inggris, riset genetik dan aplikasi terapi gen sangat diawasi ketat oleh *Gene Therapy Advisory Committee*, Komite Etika Rumah Sakit regional maupun lokal, Universitas, dan Institut riset.⁽¹⁷⁾

Menggunakan eksperimen terapi gen untuk alasan kosmetik juga dipertanyakan. Mereka mempermasalahkan apakah kekurangan dalam hal kosmetik dapat dikategorikan sebagai suatu penyakit. Kritik juga diarahkan pada kekerdilan yang bukan merupakan suatu kelainan, yang sebenarnya tidak memerlukan pengobatan.⁽⁵⁾

KESIMPULAN DAN SARAN

Terapi gen telah menjadi salah satu cara pengobatan dalam dunia kedokteran masa kini, meskipun menurut beberapa literatur masih belum dapat dikatakan berhasil. Sehingga terapi gen masih harus terus dikembangkan melalui berbagai penelitian. Sejalan dengan kemajuan teknologi, terapi gen bisa menjadi suatu metode pengobatan yang cukup menjanjikan di masa depan.

Salah satu masalah yang paling menonjol dalam penggunaan teknik terapi gen adalah

permasalahan etika; khususnya terapi gen tipe *germ*, banyak orang yang menentangnya. Tidak dapat dipungkiri bahwa masalah etika merupakan faktor yang cukup krusial dipandang dari sudut masyarakat umum, sehingga perlu mendapatkan perhatian dari para ahli.

Di samping banyaknya hambatan yang dihadapi dalam penggunaan metode terapi gen; banyak juga manfaat yang dapat diperoleh. Terapi gen telah berkembang cukup pesat seiring dengan semakin bertambah banyaknya penemuan-penemuan baru oleh para ahli, sehingga masalah-masalah yang sebelumnya menyulitkan kini dapat diatasi. Hal ini dapat dilihat dari semakin berkembangnya penggunaan vektor dalam terapi gen.

Terapi gen telah berkembang tidak hanya sebagai alat terapi untuk pengobatan penyakit-penyakit genetik, tetapi juga untuk yang nongenetik. Meskipun banyak pro dan kontra, diharapkan teknologi ini dapat semakin dikembangkan sehingga dapat menjadi suatu metode pengobatan yang efektif di masa depan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Schellekens, Huub dkk, 1993, DNA-MARKERS-architect of life, Netherlands, Natuur & Techniek.
2. Hunt M.S., Katherine S., Gene Therapy, www.ahealthyme.com, 4-Juni-2005.
3. Lewis, Ricki, 2001, Human Genetics-Concept and application, United States, McGraw-Hill.
4. Nelson, Prof. David dan Prof. Michael M. Cox, 2005, Lehninger-Principles of Biochemistry, New York, W.H. Freeman and Company.
5. Kreuzer PhD, Helen, 2001, Recombinant DNA and Biotechnology second edition, Washington D.C., ASM Press.
6. Phillips M.S., Lee, Gene Therapy, www.PersonalMD.com, 6-Juni-2005.
7. Glick, Bernard R. dan Pasternak, Jack J., 1998, Molecular Biotechnology second edition-Principle and Application of Recombinant DNA, Washington D.C., ASM Press.
8. Strachan, Tom dan Andrew P. Read, 1999, Human Molecular Genetics second edition, United Kingdom, Bios Scientific Publishers Ltd.
9. Horwitz M.D PhD, Marshall, 2000, Basic Concept in Medical Genetics, Singapore, McGraw-Hill.
10. Coghlan, Andy., Gene Therapy is First Deafness Cure, www.newscientist.com, 6-Juni-2005.
11. Glanville, Hugh de, 1995, Medicine Digest, Philippines.
12. Seppa, Nathan., Neuron Savers: Gene Therapy Slows Alzheimer's disease, www.sciencenews.org, 6-Juni-2005.
13. Simon, Gene Therapy could Treat Arthritis, www.betterhumans.com, 6-Juni-2005.
14. Denniston, Katherine. J. dkk., 2004, General, Organic, and Biochemistry fourth edition, New York, McGraw-Hill.
15. Human Genome Project Information, Gene Therapy, www.ornl.gov, 6-Juni-2005.
16. Robert, Prof. D. F. dan Robert Chester., 1991, Molecular Genetics in Medicine, New York, St. Martin Press Inc.
17. Bruce, Dr. Donald., Moral and Ethical Issues in Gene Therapy, www.srtp.org.uk, 6-Juni-2005.