

ARTIKEL PENELITIAN

Variasi Genetik Gen CD40 Daerah 5'-UTR dan Karakteristik Pasien: Hubungannya dengan Risiko Kambuh Penyakit Graves

Trisia Lusiana Amir,^{1*} Dwi Anita Suryandari,² Fatimah Eliana,³
Luluk Yunaini,² Dwi Yanti¹

¹Program Ilmu Biomedik FK Universitas Indonesia,

²Departemen Biologi FK Universitas Indonesia

³FK Universitas YARSI

Korespondensi trisia_amir@yahoo.com

Diterima 6 Januari 2016; Disetujui 11 November 2016

Abstrak

Lebih dari 50% penderita penyakit graves/graves' disease (GD) dapat kambuh kembali setelah remisi. Kekambuhan dipengaruhi oleh faktor pengobatan, jenis kelamin, usia saat diagnosis dan genetik. Salah satu gen yang meregulasi respons imun GD adalah gen CD40 yang secara umum diekspresikan di permukaan limfosit B. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara variasi genetik gen CD40 daerah 5'-UTR, jenis kelamin dan usia terhadap risiko kekambuhan GD. Penelitian dilakukan di RS Dr Cipto Mangunkusumo pada bulan Agustus – Desember 2014. Studi kasus kontrol ini membandingkan 30 penderita GD yang kambuh dan 30 penderita GD yang tidak kambuh setelah obat antitiroid dihentikan. Analisis variasi genetik menggunakan metode PCR-RFLP dan karakteristik pasien diperoleh dari data rekam medik. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa variasi genotip dan alotip gen CD40 C/T-1 daerah 5'-UTR serta jenis kelamin tidak memiliki perbedaan bermakna terhadap risiko kekambuhan GD ($p>0,05$), namun terdapat perbedaan bermakna antara usia saat diagnosis ($p=0,001$) dengan risiko kekambuhan. Disimpulkan variasi genetik gen CD40 C/T-1 daerah 5'-UTR tidak berhubungan dengan risiko kekambuhan GD, namun usia diagnosis berperan pada kekambuhan GD.

Kata Kunci: variasi genetik, CD40, kambuh, penyakit graves

Genetic Variation at 5'-UTR of CD40 Gene and Patients Characteristics: Associated with Relapse in Graves' Disease

Abstract

More than 50% patients graves' disease (GD) can relapse after remission period. This can be influenced by treatment, gender, age of diagnosis and genetic. One of the genes that regulate immune response is CD40 gene, which is found on the surface of Lymphocyte B. The aim of this research was to determine genetic variation at 5'-UTR of CD40 gene and the role of age and gender that influence the risk for relapse. This study was conducted in Dr Cipto Mangunkusumo Hospital from August to December 2014. This study was a case-control study comparing 30 relapse patients and 30 non-relapse patients after treatment with anti-thyroid drug was terminated. Genetic variation was analyzed with PCR-RFLP and clinical characteristic by medical record. In this research, we found that both genotype and alleles 5'-UTR of CD40 gene variation have no association with risk for relapse ($p>0.05$), but age of diagnosis was considered significant with risk for relapse ($p=0.001$). In conclusion, genetic variation in 5'-UTR CD40 gene is not risk for relapse but age of diagnosis may be a risk for relapse in GD patients.

Keywords: Genetic variation, CD40, relapse, Graves' diseases

Pendahuluan

Penyakit graves/*graves' disease* (GD) adalah penyakit autoimun di organ tiroid yang umumnya ditandai dengan hipertiroid.¹ GD lebih banyak ditemukan pada perempuan daripada laki-laki (5:1).² Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2013, prevalensi hipertiroid di Indonesia 0,4% dengan prevalensi tertinggi di wilayah DKI Jakarta sebanyak 0,7%.³ Selain itu, diketahui juga bahwa prevalensi GD pada populasi Amerika mencapai 1% dan populasi Kaukasia 0,5-2%.^{4,5}

PG dapat menimbulkan tirotoksikosis, yaitu peningkatan hormon tiroid akibat gagalnya mekanisme normal tubuh terhadap *self tolerance* sehingga terjadi reaksi autoimun. *Thyroid stimulating hormone receptor* (TSHR) merupakan antigen yang berperan untuk menstimulasi pembentukan antibodi dalam tubuh. Antibodi tersebut dapat mengikat dan mengaktifkan reseptor TSH serta menimbulkan hipertrofi dan hiperplasia tiroid yang ditandai dengan pembesaran kelenjar tiroid dan meningkatnya hormon tiroid.^{4,6,7}

Penatalaksanaan GD dapat dilakukan dengan pemberian obat antitiroid, yodium radioaktif dan tiroidektomi. Pemberian obat antitiroid merupakan pilihan pertama karena paling mudah, namun membutuhkan waktu 1-2 tahun untuk mencapai remisi.⁸ Penderita GD dinyatakan remisi apabila kadar FT4, FT3 dan TSH dalam serum sudah normal tanpa pemberian obat, namun kenyataannya lebih dari 50% penderita GD yang remisi dapat kembali mengalami gejala hipertiroid (relaps/kambuh).^{5,8} Hal tersebut disebabkan selain faktor pengobatan, terdapat faktor risiko lain yang berpengaruh terhadap remisi seperti jenis kelamin, usia saat diagnosis dan genetik.⁹

Gen CD40 merupakan salah satu kandidat gen yang meregulasi respons imun GD, yang terdapat di sel folikular tiroid. Ekspresi gen CD40 yang berlebihan dapat menyebabkan pembentukan antibodi spesifik terhadap tiroid dan menghasilkan sitokin atau kemokin di sel folikular tiroid.¹⁰ Penelitian sebelumnya menunjukkan *single nucleotide polymorphysm* (SNP) di daerah *5'-untranslated region* (5'-UTR) posisi C/T-1 berperan terhadap etiologi GD.^{4,5} Alel C di daerah 5'-UTR gen CD40 berasosiasi dengan GD dan memengaruhi aktivitas terbentuknya antibodi terhadap TSHR.¹¹ Hasil penelitian *in vitro* menunjukkan adanya polimorfisme alel C dapat meningkatkan proses translasi dari mRNA gen CD40 sebesar 20%-30% jika dibandingkan dengan alel T. Hal tersebut menyebabkan peningkatan ekspresi protein CD40.^{10,12}

Hingga saat ini, peran gen CD40 posisi C/T-1 daerah 5'-UTR pada patofisiologi GD telah diketahui dari berbagai penelitian baik secara *in vivo* maupun *in vitro*,^{4,5,10} namun perannya pada proses kekambuhan belum diketahui. Oleh karena itu, perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui variasi genetik gen CD40 di daerah 5'-UTR dan karakteristik pasien terhadap risiko kekambuhan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai parameter untuk pengembangan aplikasi skrining dalam penatalaksanaan penyakit GD.

Metode

Subjek Penelitian

Sampel pada penelitian ini adalah DNA tersimpan yang berasal dari penderita GD yang berobat ke Poliklinik Metabolik Endokrin Departemen Ilmu Penyakit Dalam RSUPN dr. Cipto Mangunkusumo Jakarta, pada bulan Agustus-Desember 2014. Penelitian telah disetujui Komite Etik Penelitian, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia No.490/UN2.F1/ETIK/2015.

Pemilihan kelompok kasus (kambuh) dan kelompok kontrol (tidak kambuh), dilakukan berdasarkan kriteria inklusi dan kriteria eksklusi. Kelompok kasus merupakan penderita GD yang sudah dinyatakan remisi setelah mendapatkan pengobatan antitiroid selama sekurang-kurangnya 12 bulan, namun kambuh setelah obat antitiroid dihentikan. Kriteria inklusi adalah hipertiroid, kadar FT4 meningkat dan TSHs menurun serta bersedia ikut dalam penelitian dengan menandatangani *informed consent*.

Kelompok kontrol merupakan penderita GD yang sudah mengalami remisi setelah mendapatkan pengobatan antitiroid selama sekurang-kurangnya 12 bulan dan tidak kambuh lagi meskipun obat antitiroid sudah dihentikan. Kriteria inklusi adalah eutiroid, kadar FT4 normal (12,0-27,5pmol/L) dan TSHs normal (0,25-4,0mU/L) serta bersedia ikut dalam penelitian dengan menandatangani *informed consent*.

Kriteria eksklusi baik pada kelompok kasus maupun kontrol adalah sudah pernah mendapat yodium radioaktif dan tiroidektomi. Jumlah sampel adalah 60 orang dengan masing-masing kelompok sebanyak 30 orang.

Karakteristik Pasien Penderita GD Kambuh dan Tidak Kambuh

Karakteristik pasien penderita GD yang dievaluasi meliputi jenis kelamin dan usia saat diagnosis yang diperoleh dari data rekam medis. Usia saat diagnosis dikelompokkan menjadi dua

berdasarkan nilai titik potong (*cut off point*) pada *software* SPSS versi 20, yaitu penderita GD yang berusia di bawah 31 tahun (<31 tahun) dan penderita GD yang berusia dari 31 tahun ke atas (≥ 31 tahun).

Pemeriksaan Variasi Genetik Gen CD40 C/T-1 di daerah 5'-UTR

Pemeriksaan ini dilakukan di Departemen Biologi Kedokteran FKUI. DNA tersimpan penderita GD yang kambuh dan tidak kambuh, sebelumnya telah diisolasi dari 3mL darah vena penderita GD menggunakan *wizard purification DNA promega kit* (ref A1125) dan prosedur isolasi DNA sesuai dengan petunjuk pada kit. Konsentrasi dan kemurnian DNA dihitung menggunakan nanodrop (*maestro*), dengan kisaran kemurnian 1,8-2,0.

Proses amplifikasi DNA target pada gen CD40 C/T-1 daerah 5'-UTR dilakukan dengan teknik PCR. Sekuen primer *forward* yang digunakan: 5'-TGG-GAA-TGT-TCT-GGG-GAA-3' dan *reverse*: 5'-AGG-CCT-CTT-CCC-CGA-A-3', berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kim et al.¹⁰ Larutan PCR terdiri atas 100ng DNA genom, 1x master mix (*kapa biosystems 2x*), 0,5 μ M primer *forward*, 0,5 μ M primer *reverse*. Sampel DNA diamplifikasi 35 siklus dengan denaturasi awal pada suhu 94°C selama 5 menit, kemudian masuk ke siklus yang terdiri atas denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 50°C selama 30 detik dan ekstensi pada suhu 72°C selama 30 detik. Pada

akhir siklus dilakukan pemanjangan waktu ekstensi pada suhu 72°C selama 5 menit. Hasil amplifikasi dipisahkan dengan elektroforesis pada gel agarose 1,6% selama 45 menit pada tegangan 90 Volt. Visualisasi pita fragmen DNA hasil elektroforesis diamati dengan illuminator UV (UV *long lifeTM filter spectroline*). Panjang DNA target hasil PCR gen CD40 C/T-1 posisi 5'-UTR adalah 320 bp.

Proses restriksi menggunakan enzim *NcoI* (*New England biolabs*) sebanyak 1U untuk 1 μ g DNA hasil PCR, yang selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam. Hasil fragmen DNA dianalisis pada gel agarose 3% selama 60 menit pada tegangan 90 Volt. Enzim *NcoI* mengenali alel C sehingga menghasilkan dua fragmen dengan ukuran 184 bp dan 136 bp.

Analisis Statistik

Analisis statistik dilakukan menggunakan *software* SPSS versi 20. Uji *chi-square* digunakan untuk melihat hubungan antara jenis kelamin, usia saat diagnosis, variasi genotip dan alotip terhadap risiko kekambuhan pada penderita GD. Apabila persyaratan uji *chi-square* tidak terpenuhi maka dilakukan uji *fisher*. Pengujian ini dilakukan pada $\alpha=0,05$.

Hasil

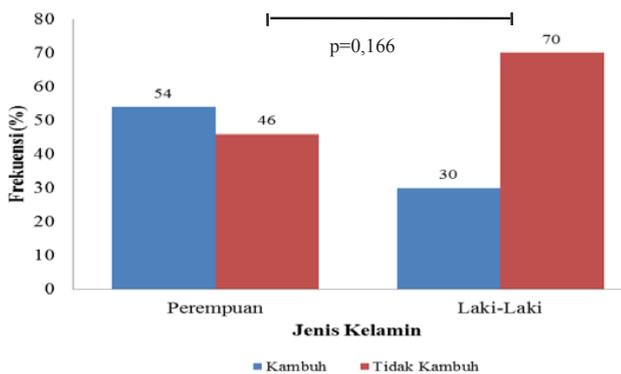
Total sampel yang digunakan sebanyak 60 orang dengan karakteristik subjek penelitian seperti tertera di Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Subjek Penelitian Penderita GD

Variabel	Kambuh (n=30)	Tidak Kambuh (n=30)	Total (n=60)
Jenis Kelamin (n,%)			
Perempuan	27 (45)	23 (38,3)	50 (83,3)
Laki-laki	3 (5)	7 (11,7)	10 (16,7)
Usia saat diagnosis (tahun)			
Rata-rata	28,6	38,3	33,4
Standar deviasi	7,5	10,4	10,2
Median	28,5	35	31
Minimum	19	24	19
Maksimum	46	60	60
<31 tahun (n,%)	21 (35)	8 (13,4)	29 (48,3)
≥ 31 tahun (n,%)	9 (15)	22 (36,7)	31 (51,7)
Variasi genotip gen CD40 C/T-1 di daerah 5'-UTR (n,%)			
CC	1 (1,7)	0 (0)	1 (1,7)
CT	26 (43,3)	26 (43,3)	52 (86,7)
TT	3 (5)	4 (6,7)	7 (11,7)
CC dan CT	27 (45)	26 (43,3)	53 (88,3)
TT dan CT	29 (48,3)	30 (50)	59 (98,3)
Alotip gen CD40 C/T-1 di daerah 5'-UTR (n,%)			
C	28 (23,4)	26 (21,7)	54 (45)
T	32 (26,7)	34 (28,4)	66 (55)

Hubungan Jenis Kelamin dengan Kekambuhan

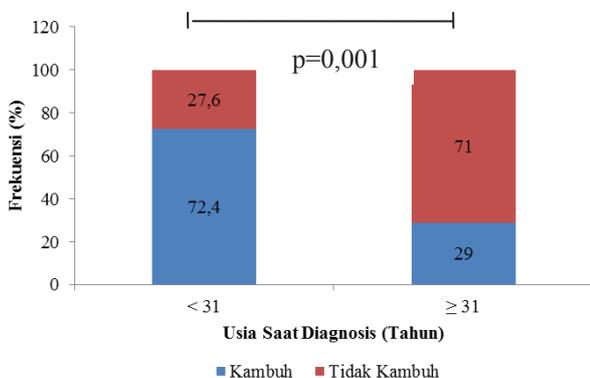
Penderita perempuan lebih banyak pada kelompok kambuh (54%) dibandingkan dengan kelompok tidak kambuh (46%). Pada laki-laki, lebih banyak pada kelompok tidak kambuh, yaitu 70% dibandingkan kelompok kambuh (30%) namun, hubungan jenis kelamin terhadap risiko kekambuhan GD tidak menunjukkan hasil yang bermakna. Uji *chi-square* 2x2 menunjukkan perbedaan bermakna ($p>0,05$) seperti ditunjukkan di Gambar 1.



Gambar 1. Perbandingan Frekuensi Jenis Kelamin pada Penderita GD yang Kambuh dengan Tidak Kambuh

Hubungan Usia saat Diagnosis dengan Kekambuhan

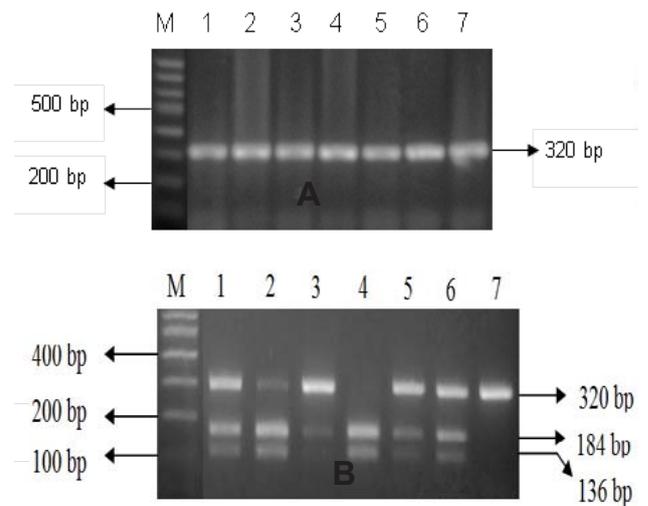
Kejadian tidak kambuh lebih banyak terjadi pada kelompok usia ≥ 31 tahun. Uji *chi-square* menunjukkan perbedaan bermakna dengan $p=0,001$ pada $\alpha=0,05$, OR= 6,4 dan IK95%=2,1-19,7 (Gambar 2). Penderita GD dengan usia saat diagnosis <31 tahun memiliki risiko kambuh lebih tinggi, yaitu 6 kali dibandingkan penderita GD dengan usia saat diagnosis ≥ 31 tahun.



Gambar 2. Perbandingan Frekuensi Usia saat Diagnosis pada Penderita GD yang Kambuh dengan Tidak Kambuh

Pemeriksaan Variasi Genetik Gen CD40 C/T-1 di Daerah 5'-UTR

Hasil amplifikasi DNA target di daerah 5'-UTR C/T-1 gen CD40 dengan teknik PCR, menghasilkan pita tunggal 320 bp (Gambar 3.A) dan hasil RFLP dengan enzim *NcoI* (Gambar 3.B) menunjukkan genotip TT (homozigot *wildtype*) ditandai dengan satu pita 320 bp, genotip CC (homozigot mutan) ditandai 2 pita pada ukuran 184 bp dan 136 bp serta genotip CT (heterozigot) ditandai 3 pita 320 bp, 184 bp dan 136 bp. Hasil PCR-RFLP ini dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil PCR-RFLP. A) PCR Gen CD40 yang Ditandai dengan Munculnya Pita Tunggal dengan Ukuran 320bp, B) RFLP Gen CD40 pada rs1883832, M=Marker. Sumur 1-3, 5 dan 6=genotip CT. Sumur 4= genotip CC dan sumur 7= genotip TT.

Hubungan Variasi Genotip Gen CD40 C/T-1 di Daerah 5'-UTR dengan Kekambuhan

Frekuensi genotip yang diperoleh pada penderita GD yang kambuh menunjukkan genotip CC hanya ditemukan pada kelompok kambuh (1,7%) dan tidak ditemukan pada kelompok tidak kambuh. Sebaliknya, genotip TT lebih banyak ditemukan pada kelompok tidak kambuh (6,7%) dibandingkan kelompok kambuh (5%). Genotip heterozigot (CT) memiliki frekuensi yang paling tinggi jika dibandingkan dengan genotip lainnya, baik pada kelompok kambuh maupun kelompok tidak kambuh (43,3%). Hubungan frekuensi genotip gen CD40 C/T-1 posisi 5'-UTR terhadap terjadinya kekambuhan pada penderita GD tidak dapat diuji dengan *chi square* 3x2 karena tidak

memenuhi syarat uji *chi square*. Oleh karena itu, dilakukan penggabungan data genotip CC dan CT yang dibandingkan dengan genotip TT dan kemudian dilakukan analisis statistik dengan uji *fisher*. Hasilnya menunjukkan tidak ada perbedaan risiko kambuh pada penderita GD yang bergenotip CC dan CT dengan genotip TT pada gen CD40 C/T-1 posisi 5'-UTR dengan nilai $p=1,000$ (Tabel 2).

Tabel 2. Variasi Genetik Gen CD40 C/T-1 Daerah 5'-UTR

Gen CD40 C/T-1 Daerah 5'-UTR	Kambuh (n=30)	Tidak Kambuh (n=30)
Frekuensi Genotip		
CC	1 (1,7%)	0%
CT	26 (43,3%)	26 (43,3%)
TT	3 (5%)	4 (6,7%)
CC dan CT	27 (45%)	26 (43,3%)
TT	3 (5%)	4 (6,7%)
Frekuensi Alel		
C	28 (23,3%)	26 (21,7%)
T	32 (26,7%)	34 (28,3%)

Ket: ^aUji *Fisher* dan ^bUji *Chi-square*

Hubungan Alotip Gen CD40 C/T-1 di Daerah 5'-UTR terhadap Kekambuhan

Frekuensi alotip yang diperoleh pada kelompok kambuh dan tidak kambuh dari penderita GD menunjukkan bahwa frekuensi alel C lebih tinggi pada kelompok penderita GD yang kambuh (23,3%) dibandingkan pada kelompok tidak kambuh (21,7%), sebaliknya alel T lebih tinggi pada kelompok penderita GD yang tidak kambuh (28,3%) dibandingkan kelompok kambuh (26,7%). Analisis uji statistik dengan uji *chi-square* 2x2 menunjukkan nilai $p>0,05$ yang artinya tidak ada perbedaan risiko kambuh pada penderita GD alel C dan alel T pada gen CD40 C/T-1 posisi 5'-UTR. Data frekuensi genotip dan alotip dapat dilihat di Tabel 2.

Pembahasan

CD40 merupakan anggota TNFR yang secara umum diekspresikan di permukaan sel B dan APC, yang berperan dalam regulasi imun selular dan humoral. Interaksi CD40 dengan ligannya (CD40L/CD154) di permukaan sel T yang teraktivasi, dapat mengubah respons imun ke jalur Th2 dan

meningkatkan respons imun humoral.¹³⁻¹⁵ Oleh karena itu, gen CD40 merupakan salah satu kandidat gen yang berperan dalam etiologi GD. Selain itu, karakteristik pasien penderita GD juga berperan pada peningkatan risiko GD seperti jenis kelamin dan usia saat diagnosis.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perempuan memiliki risiko yang lebih tinggi untuk mengalami kekambuhan GD dibandingkan laki-laki, namun tidak menunjukkan perbedaan bermakna. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Eliana,¹⁶ Wang et al¹⁷ dan Hsiao et al.¹⁸ Faktor yang menyebabkan penderita GD lebih banyak ditemukan pada perempuan dan memiliki kecenderungan untuk kambuh dibandingkan laki-laki adalah peran hormon estrogen, ketidaknormalan kromosom yang memengaruhi kadar hormon seks, masa kehamilan dan fenomena epigenetik seperti ketidakseimbangan inaktivasi kromosom X.¹⁹

Penelitian ini menggambarkan usia saat diagnosis berhubungan dengan risiko kekambuhan GD. Penderita GD yang usia diagnosisnya <31 tahun akan memiliki risiko kambuh 6 kali lebih besar dibandingkan usia diagnosis ≥ 31 tahun. Eliana¹⁶ melaporkan penderita GD dengan usia diagnosis <30 tahun memiliki risiko kambuh 2 kali dibandingkan usia diagnosis ≥ 30 tahun dengan ($p=0,036$).¹⁶ Penelitian Pena et al²⁰ juga membuktikan bahwa kekambuhan pada GD berhubungan dengan umur diagnosis yang lebih muda ($p<0,05$); semakin muda usia diagnosis semakin tinggi risiko kekambuhan.

Penderita GD yang kambuh pada usia diagnosis <30 tahun memiliki kadar T regulator rendah sedangkan kadar IL-10, IL-17 dan antibodi terhadap TRAb tinggi dalam serum.¹⁶ Hal tersebut menunjukkan bahwa GD merupakan penyakit autoimun yang manifestasinya ditandai dengan peningkatan antibodi. Peningkatan respons imun adaptif, menimbulkan spesifisitas dan memori.⁶ Apabila penderita GD terpapar kembali oleh patogen maka respons imun adaptif mengalami peningkatan respons. Oleh karena itu, semakin muda usia diagnosis penderita GD maka hipersensitivitas imun semakin meningkat dan menyebabkan risiko kambuh semakin tinggi.

Variasi genetik gen CD40 C/T-1 di daerah 5'-UTR telah dilakukan dengan metode PCR-RFLP. Metode tersebut bertujuan untuk mengetahui nukleotida yang mengalami perubahan basa atau SNP. Tani et al¹³ melaporkan bahwa deteksi ada atau tidaknya SNP pada suatu gen merupakan salah

satu metode untuk mengidentifikasi kerentanan gen terhadap terjadinya suatu penyakit.

Analisis molekuler gen CD40 dengan metode PCR-RFLP menunjukkan bahwa genotip CC ditandai dengan dua fragmen DNA dan genotip TT hanya satu fragmen DNA. Hal tersebut menandakan bahwa enzim *NcoI* sebagai enzim restriksi mampu mengenali situs restriksi yang khas/spesifik pada sekuen DNA gen CD40. Genotip CT menunjukkan tiga fragmen DNA, yang terbentuk karena setiap genotip pada tiap organisme terdiri atas dua alel. Jika organisme tersebut memiliki genotip dengan alel yang berbeda (C dan T), maka ketika dipotong dengan enzim restriksi *NcoI* menyebabkan alel C akan terpotong dan alel T tidak terpotong.

Hasil penelitian ini tidak menunjukkan hubungan antara variasi genetik gen CD40 C/T-1 daerah 5'-UTR terhadap risiko kekambuhan GD. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Hsiao et al²¹ di Taiwan, yang menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan antara genotip dan alotip dengan kekambuhan GD ($p>0,05$). Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian yang dilaporkan oleh Wang et al,¹⁷ yang menunjukkan hubungan pada SNP dengan rs745307, rs11569309 dan rs3765457. Analisis polimorfisme gen CD40 C/T-1 daerah 5'-UTR pada rs1883832 dilaporkan memengaruhi terjadinya GD,¹¹ namun tidak berperan dalam kekambuhan GD dari hasil penelitian ini.

Variasi genotip gen CD40 C/T-1 daerah 5'-UTR menunjukkan genotip CC hanya ditemukan pada kelompok kambuh. Hal tersebut menandakan genotip CC memiliki kecenderungan untuk kambuh, walaupun secara statistik tidak menunjukkan hubungan. Frekuensi genotip CC ditemukan sangat sedikit pada populasi GD di Indonesia sehingga risiko kambuh pada penderita GD semakin kecil. Hasil ini bertentangan dengan hasil penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa genotip CC berperan dalam meningkatkan risiko GD sebanyak 30-80%. Hal tersebut disebabkan genotip CC berkontribusi meningkatkan ekspresi protein CD40 sebesar 15-32% di sel B atau sel tiroid yang berpengaruh pada perkembangan GD.^{10,15,22}

Genotip TT banyak ditemukan pada kelompok tidak kambuh yang menunjukkan bahwa genotip TT dapat menurunkan risiko kekambuhan GD. Hasil ini dapat terjadi karena ekspresi protein CD40 pada penderita GD dengan genotip TT lebih rendah 39,4% daripada penderita GD dengan genotip CC.¹⁵

Penelitian ini juga tidak menunjukkan hubungan antara alotip dengan risiko kekambuhan GD, walaupun frekuensi alel C lebih tinggi pada penderita GD yang kambuh dibandingkan tidak kambuh. Hasil penelitian ini serupa dengan penelitian Hsiao et al²¹ di Taiwan dengan nilai $p>0,05$ dan penelitian Houston et al²³ di Inggris yang menemukan frekuensi alel C lebih besar pada penderita GD dibandingkan kontrol, namun secara statistik tidak menunjukkan perbedaan bermakna ($p=0,89$).

Jacobson et al¹⁵ melaporkan bahwa pada penderita GD yang memiliki alel C atau alel T akan mengekspresikan protein CD40 dengan kuantitas berbeda. Alel C dari gen CD40 dapat meningkatkan efisiensi pengenalan ribosom pada mRNA sehingga dapat meningkatkan inisiasi translasi dan menghasilkan protein CD40 dalam jumlah banyak. Sebaliknya alel T dapat menurunkan produk gen dengan cara penurunan efisiensi translasi gen CD40 akibat gangguan pada pengenalan ribosom untuk inisiasi translasi, meskipun tidak mengganggu kemampuan RNA polimerase untuk menterjemahkan mRNA hingga membentuk protein CD40. Penelitian Kim et al¹¹ menunjukkan penderita GD yang memiliki alel C memiliki kadar antibodi terhadap TSHR lebih tinggi jika dibandingkan dengan penderita GD yang membawa alel T, sehingga alel C lebih berperan dalam perkembangan GD. Oleh karena itu, walaupun alel C berperan pada perkembangan GD¹¹ namun pada penelitian ini dan penelitian Hsiao²¹ tidak menunjukkan peran alel C pada risiko kekambuhan GD. Hal tersebut menunjukkan bahwa faktor lingkungan lebih berperan terhadap kekambuhan GD dibandingkan faktor genetik.

Sebaiknya, untuk analisis distribusi frekuensi polimorfisme pada populasi GD di Indonesia, perlu dilakukan penambahan jumlah sampel minimal 100 sampel. Untuk mengetahui SNP yang diteliti merupakan faktor risiko terjadinya GD pada populasi Indonesia, perlu dilakukan penambahan kelompok yaitu kelompok yang tidak menderita GD.

Kesimpulan

Tidak terdapat hubungan antara jenis kelamin dan variasi genetik gen CD40 C/T-1 daerah 5'-UTR terhadap kekambuhan GD, namun terdapat hubungan antara usia saat diagnosis terhadap risiko kekambuhan GD.

Daftar Pustaka

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Diseases caused by immune responses: hypersensitivity and autoimmunity. *Cellular and molecular immunology*. 6 ed. China: Saunders-Elsevier Inc; 2010. p. 423.
2. Weetman AP. Graves' disease (review article). *N Engl J Med*. 2000;1236-48.
3. Infodatin. Situasi dan analisis penyakit tiroid. Jakarta: Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI; 2015.
4. Ploski R, Szymanski K, Bednarczyk T. The genetic basis of graves' disease. *Curr Genomics*. 2011;12:542-63.
5. Jacobson E, Huber A, Akeno N, Sivak M, Li C, Concepcion E, et al. A CD40 kozak sequence polymorphism and susceptibility to antibody-mediated autoimmune condition: the role of CD40 tissue-specific expression. *Genes Immun*. 2007;8:205-14.
6. Baratawidjaja KG, Iris R. Autoimunitas. *Imunologi Dasar*. Edisi ke-10. Jakarta: Badan Penerbit FKUI; 2012. p.313-33.
7. Tanwar R, Sharma S, Khanna SC. Thyroid disorders and parathyroid during pregnancy. *Common Medical Disorders in Obstetrics*. India: Jaypee-Brothers Medical Publisher; 2010.p.282-305.
8. Hyperthyroidism. *The American Thyroid Association 2014* [cited 26 Oktober 2015]. Diunduh dari: //www.thyroid.org.
9. Waspadji S. Pendekatan pasien dan pengelolaan tirotoksikosis. *Penatalaksanaan penyakit-penyakit tiroid bagi dokter*. Jakarta: PERKENI JAYA; 2008. p. 22-8.
10. Huber A, Finkelman FD, Li CW, Concepcion E, Smith E, Jacobson EL, Rauf, et al. Genetically-driven target tissue over-expression of CD40: a novel mechanism in autoimmune disease. *J Immunol*. 2012; 189(6):3043-53.
11. Kim TY, Park DJ, Hwang JK, Song JY, Park DJ, Cho BY, et al. A C/T polymorphism in the 5'-untranslated region of the CD40 gene is associated with graves' disease in Koreans. *Thyroid*. 2003; 13(10):919-25.
12. Li M, Sun H, Liu S, Yu J, Li Q, Liu P, et al. CD40 C/T-1 polymorphism plays different roles in GD and HT: a meta-analysis. *Endocr J*. 2012;12:1-10.
13. Tani J, Hiromatsu Y. Genetic susceptibility to graves' ophthalmopathy: INTECH; 2013 [diakses 27 April 2015]. Diunduh dari: <http://dx.doi.org/10.5772/53441>.
14. Tomer Y, Concepcion E, Greenberg DA. A C/T single-nucleotide polymorphism in the region of the CD40 gene is associated with graves' disease. *Thyroid*. 2002;12(12):1129-35.
15. Jacobson E, Concepcion E, Oashi T, Tomer Y. A graves' disease-associated kozak sequence single-nucleotide polymorphism enhances the efficiency of CD40 gene translation: a case for translation pathophysiology. *Endocrinology*. 2005;146(6):2684-91.
16. Eliana F. Peran Gen Cytotoxic T Lymphocyte-associated protein-4, gen tiroglobulin, gen thyroid stimulating hormon reseptor dan sel T regulator sebagai faktor risiko kambuh pada penyakit graves [disertasi]. Jakarta: Universitas Indonesia; 2015.
17. Wang PW, Chen IY, Juo SHH, Hsi E, Liu RT, Hsieh CJ. Genotype and phenotype predictors of relapse of graves' disease after antithyroid drug withdrawal. *Eur Thyroid J*. 2012;1:251-58.
18. Hsiao JY, Hsieh MC, Hsiao CT, Weng HH, Ke DS. Association of CD40 and thyroglobulin genes with later-onset graves' disease in Taiwanese patients. *Eur J Endocrinol*. 2008;159:617-21.
19. Marino M, Latrofa F, Menconi F, Chiovato L. Role of genetic and non-genetic factors in etiology of graves' disease. *J Endocrinol Invest*. 2015;38:283-94.
20. Pena V, Vicente A, Maqueda E, Sastre J, Val E, Marco A, et al. Predictor of relapse of graves' disease after thionamide drugs treatment in clinical practice. *Endocr Abstr*. 2012;29:1635.
21. Hsiao JY, Tien KJ, Hsiao CT, Hsieh MC. A C/T polymorphism in CD40 gene is not associated with susceptibility and phenotype of graves' disease in Taiwanese. *Endocr J*. 2008;55(3):477-84.
22. Peters AL, Stunz LL, Bioshop GA. CD40 and autoimmunity: the dark side of a great activator (review article). *Semin Immunol*. 2009;21:293-300.
23. Houston FA, Wilson V, Jennings CE, Owen CJ, Donaldson P, Perros P, et al. Role of the CD40 locus in graves' disease. *Thyroid*. 2004;14(7):506-9.