

ABSTRACT***The Role of Hla-C Levels in Surabayan Cleft Lip And Palate Patients***

Introduction. Cleft lip and palate (CLP) is the most common orofacial cleft with the highest number of prevalence and can cause severe skeletal malocclusion and requires long-term care. CLP occurs as a result of polygenic interactions and environmental factors. One of the genes that cause CLP is found on chromosome 6. Human Leukocyte Antigen (HLA) is one of the most polymorphic genes on the short arm of chromosome 6 and is suspected to be one of the susceptibility genes for CLP. HLA-C comes from HLA Class I which has a high polymorphic degree and is associated with CLP. However, how the mechanism and the extent to which HLA-C can affect CLP is still unclear.

Aims. To compare HLA-C levels in CLP sufferers and control groups (normal individuals).

Methods and Materials. A total of 30 subjects were divided into two groups, CLP group and the control group. 5cc peripheral whole blood was taken from the dextra cubital vein and centrifuged to obtain blood plasma which was then subjected to an ELISA test. The results were measured with a luminometer at 450nm and then performed a statistical test using the Mann-Whitney Test.

Results. ELISA test performed in the CLP group plasma gave an average of 1,950 mg/dL and in the control group plasma was 2.2899. HLA-C levels in the CLP group were Significantly lower than in the control group.

Conclusions. Low levels of HLA-C in the group of patients with CLP indicate that in patients with CLP have a lower immune system and can occur due to the HLA-C gene that experiences polymorphism. So, it can fail to recognize pathogens.

Keywords: HLA-C levels, CLP patients, ELISA test

ABSTRAK

Latar belakang. *Cleft lip and palate* (CLP) merupakan kelainan orofasial dengan jumlah prevalensi tertinggi dan dapat menyebabkan maloklusi skeletal yang parah serta membutuhkan perawatan jangka panjang yang cukup lama. CLP terjadi sebagai akibat dari interaksi poligenik dan faktor lingkungan. Salah satu gen penyebab CLP ditemukan pada kromosom 6. *Human Leukocyte Antigen* (HLA) adalah salah satu gen yang paling polimorfik pada lengan pendek kromosom 6 dan ditengarai menjadi salah satu gen *susceptibility* terjadinya CLP. HLA-C berasal dari HLA Kelas I yang memiliki derajat polimorfik tinggi dan berkaitan dengan CLP. Namun, bagaimana mekanisme dan sejauh mana HLA-C dapat memengaruhi CLP masih belum jelas.

Tujuan. Membandingkan kadar HLA-C pada penderita CLP dan kelompok kontrol (individu normal).

Metode. Sebanyak 30 subyek penelitian dibagi atas dua kelompok, yaitu kelompok penderita CLP dan kelompok kontrol. 5cc darah tepi diambil dari vena cubiti dextra dan disentrifus untuk mendapatkan plasma darah yang kemudian dilakukan uji ELISA. Hasilnya diukur dengan luminometer pada 450nm kemudian dilakukan uji statistik menggunakan *Mann-Whitney Test*.

Hasil. Uji ELISA plasma darah pada kelompok penderita CLP memberikan hasil rata-rata 1,950 mg/dL dan pada kelompok kontrol sebesar 2,2899. Secara signifikan kadar HLA-C pada kelompok penderita CLP lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Kesimpulan. Rendahnya kadar HLA-C pada kelompok penderita CLP menunjukkan bahwa pada penderita CLP memiliki sistem imun yang lebih rendah dan dapat terjadi akibat gen HLA-C yang mengalami polimorfisme. Sehingga, dapat mengalami kegagalan mengenali patogen.

Kata kunci: Kadar HLA-C, penderita CLP, uji ELISA

RINGKASAN

Kelainan kongenital Cleft Lip and Palate (CLP) merupakan hasil dari interaksi gen dan faktor lingkungan dengan angka kejadian tertinggi diantara malformasi wajah. Hal ini menjadi perhatian tersendiri bagi seorang ortodontis karena pasien CLP memerlukan perawatan gigi hamper seumur hidupnya. Kromosom 6p menjadi salah satu gen penyebab terjadinya CLP dan perlu untuk diteliti keterlibatannya. Salah satu region dari lokus HLA yaitu HLA-C menjadi fokus penelitian karena pada region ini merupakan region klasik Kelas I dengan polimorfisme terbanyak dibandingkan region lainnya.

Penelitian awal untuk deteksi peran HLA-C terhadap CLP didapat melalui adanya perbedaan kadar HLA-C dalam darah individu normal dengan penderita CLP dengan prosedur ELISA. Perbedaan kadar HLA-C merupakan hasil atau produk gen yang berbeda akibat mutasi gen pada susunan basa nukleotida dalam region HLA-C.

Sebanyak 15 penderita CLP di *Cleft Lip and Palate Center* Surabaya dan 15 individu normal dilakukan pengambilan darah tepi melalui pembuluh vena pada fossa antecubital. Setelah diambil darahnya sebanyak 5cc, darah disentrifus selama 12 menit dengan kecepatan 1350+/- 150 rcf untuk mendapatkan plasma darah. Kemudian darah dilakukan pemeriksaan dengan teknik ELISA yakni pemeriksaan antibodi dengan bantuan enzim. Zat hasil reaksi diukur dengan luminometer.

Pemeriksaan kadar HLA-C dengan teknik ELISA ini memberikan hasil uji statistik kadar HLA-C pada penderita CLP memiliki kadar yang lebih rendah secara

signifikan dibandingkan dengan individu normal, sehingga hipotesis diterima, terdapat perbedaan kadar HLA-C antara individu normal dan penderita CLP.

Kadar HLA-C yang rendah pada penderita CLP menunjukkan gambaran penurunan ekspresi gen HLA-C. Terdapat kemungkinan besar terjadi mutasi gen HLA-C pada penderita CLP yang mengakibatkan penurunan ekspresi gen, sehingga kadar HLA-C dalam darah mengalami penurunan. Kadar yang rendah pada penderita CLP memberikan efek imunokompromis dengan mekanisme kegagalan aktivasi sel T CD8⁺. Oleh karena itu, penderita CLP akan lebih mudah terjadi infeksi dan apabila terinfeksi akan lebih lama penyembuhannya daripada individu normal. Meski demikian hal ini membutuhkan penelitian lebih lanjut dengan teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dengan menggunakan jumlah sampel yang lebih banyak untuk benar-benar mengetahui basa nukleotida yang mengalami mutasi pada tingkat gen HLA-C.

SUMMARY

Cleft Lip and Palate (CLP) is congenital abnormalities that are the result of the interaction of genes and environmental factors with the highest incidence among facial malformations. This is a concern for orthodontists because CLP patients require life-inhibiting dental work. The 6p chromosome is one of the causes of CLP and its interactions need to be studied. One of the areas of the HLA locus, namely HLA-C, is the focus of research because this region is a Class I classic area with the most polymorphisms compared to other regions.

Initial research to detect the role of HLA-C on CLP was obtained through the difference in HLA-C levels in the blood of normal individuals with CLP patients with the ELISA procedure. The difference in HLA-C levels is a result of different gene product due to gene mutations in the nucleotide base arrangement in the HLA-C region.

A total of 15 CLP patients at Cleft Lip and Palate Center Surabaya and 15 normal individuals were taken for peripheral blood sampling through a vein in the antecubital fossa. After 5cc of blood is drawn, the blood is centrifuged for 12 minutes at a rate of 1350 +/- 150 rcf to get blood plasma. Then the blood is examined using the ELISA technique, namely antibody examination with the help of enzymes. The reaction product is measured with a luminometer.

Examination of HLA-C levels using the ELISA technique provides statistical test results of HLA-C levels in CLP patients having a significantly lower level than

normal individuals, so the hypothesis is accepted, there are differences in HLA-C levels between normal individuals and CLP patients.

Low HLA-C levels in CLP patients show a decrease in HLA-C gene expression. There is a high probability that there is a mutation in the HLA-C gene in CLP patients which results in decreased gene expression, so that the HLA-C level in the blood decreases. Low levels in patients with CLP provide an immunocompromising effect with the failure mechanism of CD8 + T cell activation. Therefore, patients with CLP will be more prone to infection and if infected will take longer to heal than normal individuals. However, this requires further research with the PCR (Polymerase Chain Reaction) technique using a larger number of samples to really know the nucleotide bases that have mutations at the level of the HLA-C gene.