

DISERTASI

**POLIMORFISME GEN CTLA-4 DAN GEN PTPN-22, POSITIFITAS
ANTI-THYROID PEROXIDASE DAN ANTI-THYROGLOBULIN, SERTA
KADAR T3, DAN FT4: STUDI PADA ANAK SINDROM DOWN**



MUHAMMAD FAIZI

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

DISERTASI

**POLIMORFISME GEN CTLA-4 DAN GEN PTPN-22, POSITIFITAS
ANTI-THYROID PEROXIDASE DAN ANTI-THYROGLOBULIN, SERTA
KADAR T3, DAN FT4: STUDI PADA ANAK SINDROM DOWN**



MUHAMMAD FAIZI

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

DISERTASI

**POLIMORFISME GEN CTLA-4 DAN GEN PTPN-22, POSITIFITAS
ANTI-THYROID PEROXIDASE DAN *ANTI-THYROGLOBULIN*, SERTA
KADAR T3, DAN FT4: STUDI PADA ANAK SINDROM DOWN**

MUHAMMAD FAIZI

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

**POLIMORFISME GEN CTLA-4 DAN GEN PTPN-22, POSITIFITAS
ANTI-THYROID PEROXIDASE DAN *ANTI-THYROGLOBULIN*, SERTA
KADAR T3, DAN FT4: STUDI PADA ANAK SINDROM DOWN**

DISERTASI

Untuk memperoleh Gelar Doktor

dalam Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran

pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

dan dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Akhir Tahap 2 (Terbuka)

Oleh :

MUHAMMAD FAIZI

011817017327

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2022

LEMBAR PENGESAHAN

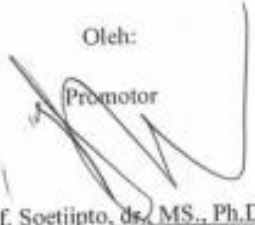
LEMBAR PENGESAHAN

DISERTASI

POLIMORFISME GEN CTLA-4, GEN PTPN-22, AKTIFITAS ANTI-
THYROID PEROXIDASE, ANTI-THYROGLOBULIN, KADAR T3 DAN FT4:
STUDI PADA ANAK SINDROM DOWN

TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL 30 SEPTEMBER 2021

Oleh:
Promotor



Prof. Soetjipto, dr., MS., Ph.D
NIP. 195002171978031002

Ko Promotor



Dr. Anang Endaryanto, dr., SpA(K)
NIP. 19630423 198901 1003

**Disertasi ini telah disetujui untuk diuji dan dinilai
oleh panitia penguji Ujian Tahap 1 (Tertutup)
pada Tanggal 24 November 2021**

Panitia penguji:

Ketua : Prof. Retno Handjani, dr., MS., Ph.D

Anggota : 1. Prof. Soetjipto, dr., MS., Ph.D

2. Dr. Anang Endaryanto, dr., Sp.A(K)

3. Prof. Dr. dr. Aman Bhakti Pulungan, Sp.A(K), FAAP. FRCPI
(Hon.)

4. Dr. Windhu Purnomo, dr., MS.

5. Dr. Sony Wibisono, dr., Sp.PD-KEMD, FINASIM

6. Dr. Bagus Setyoboedi, dr., Sp.A(K)

7. Dr. Martono Tri Utomo, dr., Sp.A(K)

Ditetapkan dengan Surat Keputusan

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Tentang Panitia Penguji Disertasi

Nomor : 627/UN3.1.1/HK/2021

Tanggal : 24 November 2021

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini saya :

Nama : Muhammad Faizi

NIM : 011817017327

Program Studi : Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor

Alamat / No. Telp : Bumi Suko Indah CC-02, RT/RW 045/011, Kel. Suko, Kec.
Sidoarjo / 08123402094

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Disertasi saya ini adalah asli dan benar-benar hasil karya sendiri, dan bukan hasil karya orang lain dengan mengatas namakan saya, serta bukan merupakan hasil peniruan atau penjiplakan (plagiatism) dari hasil karya orang lain. Disertasi belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik baik di Universitas Airlangga, maupun di Perguruan Tinggi lainnya;
2. Dalam Disertasi ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar kepustakaan;
3. Pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya, dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh. Karena karya tulis Disertasi ini, serta sanksi-sanksi lainnya sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Surabaya, 6 Desember 2021

Yang membuat pernyataan,



Muhammad Faizi

NIM 011817017327

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah Rabbil Alamin, puji syukur kehadiran Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala rahmat dan karuniaNya sehingga disertasi ini dapat diselesaikan. Disertasi ini dapat diselesaikan tidak lepas dari dorongan, bimbingan, arahan, saran dan koreksi dari Tim Promotor, oleh karena itu dengan segala kerendahan hati, perkenankan saya menghaturkan terima kasih yang tulus serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat Prof. Soetjipto, dr., MS., Ph.D sebagai promotor yang telah dengan penuh pengertian, perhatian, dan kesabaran telah memberikan dukungan mental, meluangkan banyak waktu untuk berdiskusi dan memberikan masukan, saya ucapkan terima kasih yang tak terhingga. Dr. Anang Endaryanto, dr., Sp.A(K), sebagai Ko-promotor yang banyak memberikan masukan penting dan sangat mendasar yang sangat bermanfaat bagi peningkatan mutu disertasi ini, serta kesediaannya dengan ikhlas bersusah payah di sela-sela kesibukan beliau sebagai direktur pelayanan medis RSUD Dr Soetomo untuk berdiskusi dan memberikan masukan demi penulisan disertasi ini, saya ucapkan terima kasih yang sedalam-dalamnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya. Dengan selesainya disertasi ini perkenankanlah saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

Prof. Dr. Moh. Nasih, SE., MT., Ak. selaku Rektor Universitas Airlangga; dan Prof. Dr. Fasichul Lisan, Apt., selaku mantan Rektor Universitas Airlangga atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas

Kedokteran Universitas Airlangga. Prof. Dr. Budi Santoso, dr, Sp.OG(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan Prof. Dr. Soetojo, dr., Sp.U selaku mantan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Prof. Dr. Hendy Hendarto, dr., Sp.OG(K) selaku Koordinator Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor dan Prof. Dr. H. Joewono Soeroso, dr., Msc., Sp.PD-KR selaku mantan Koordinator Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Program Studi Program Pascasarjana Universitas Airlangga, yang telah memberikan asupan akademik, bimbingan dan motivasi kepada saya dalam menjalani dan menyelesaikan setiap tahapan pendidikan selama masa studi. Direktur RSUD. Dr. Soetomo, Dr. Joni Wahyuhadi, dr., Sp.BS(K); dr. Harsono selaku mantan Direktur RSUD. Dr. Soetomo yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti pendidikan Program Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Ketua, serta mantan ketua Departemen/KSM Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga – RSUD Dr. Soetomo Surabaya, teruntuk Prof. Bambang Permono, dr., SpA(K), Prof. Dr. Subijanto Marto Sudarmo, dr., Sp.A(K), Sjamsul Arief, dr., Sp.A(K), MARS, serta Dr. Hari Kushartono, dr., Sp.A(K) Rahimahullah yang telah menerima saya sebagai staff, memberikan kesempatan, serta menyemangati saya untuk mengabdikan diri di Dep/KSM Ilmu Kesehatan Anak serta mengikuti pendidikan Program Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Guru saya Netty EP; dr., SpA(K), Prof. Dr. Jose RL Batubara, dr., SpA(K); Bambang Tridjaja, dr., SpA(K), Prof. Dr. Aman Bhakti Pulungan, dr., SpA(K) yang telah mengajarkan kepada saya dasar-dasar Endokrinologi anak; serta adik-adik saya di divisi Endokrinologi anak: Dr. Nur Rochmah, dr., SpA(K); Irwina Rahma Andriani, dr., SpA Rahimahallah; Yuni Hisbiyah, dr., SpA., MMRS; dan Rayi Kurnia Perwitasari, dr., Sp.A, M.Ked.Klin yang telah kebersamaan saya mengabdikan diri dan mengembangkan divisi Endokrinologi anak Dep/KSM Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga – RSUD Dr. Soetomo.

Dr. Sukmawati Basuki, dr., M.Sc serta seluruh analis di *Tropical Disease Centre* kampus C Universitas Airlangga yang telah membantu proses pemeriksaan polimorfisme gen. Semua staf pengajar pada Program Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberikan ilmu dasar dan ilmu terapan yang sangat berharga dan bermanfaat membantu saya dalam menyusun disertasi.

Terima kasih kepada Prof. Soetjipto, dr., MS., Ph.D; Dr. Anang Endaryanto, dr., SpA(K); Prof. Retno Handajani, dr., MS., Ph.D; Prof. Dr. Aman Bhakti Pulungan, dr., SpA(K); Prof. Dr. Madarina Julia, dr. SpA(K); Dr. Bagus Setyoboedi, dr., Sp.A (K); Dr. Windhu Purnomo, dr., MS.; Dr. Sony Wibisono, dr., Sp.PD-KEMD, FINASIM; Dr. Martono Tri Utomo, dr., Sp.A(K) yang telah memberi bimbingan, saran dan masukan untuk disertasi saya pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Terimakasih kepada semua pihak yang telah mendukung dan membantu proses pendidikan dan penelitian untuk penulisan disertasi saya. Disertasi ini tidak

mungkin selesai tanpa bantuan dari semua staf pengajar Departemen Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberikan kelonggaran untuk pengaturan jadwal pekerjaan saya selama pendidikan, penelitian dan penulisan disertasi. Terima kasih kepada adik-adik PPDS Ilmu Kesehatan Anak atas bantuannya membantu saya menyelesaikan penelitian serta mempersiapkan tahapan ujian yang harus saya lalui.

Ucapan terima kasih juga saya sampaikan untuk Prof Dr. Budi Santoso, dr., Sp.OG(K); Prof. Soetjipto dr., M.S., Ph.D; Dr. Anang Endaryanto dr., Sp.A(K); Prof. Jose RL Batubara, dr., Ph.F, Sp.A(K); Muhammad Midtahussurur, dr., Sp.PD., M.Kes., Ph.D, FINASIM; Dr. Nurwasis dr., Sp.M(K); Dr. Anggraini Dwi Sensusiati, dr., Sp.Rad(K); Prof. Retno Handajani, dr., MS., Ph.D atas waktu, masukan, dan saran yang diberikan selama proses ujian akhir tahap 2 (terbuka).

Seluruh guru dan teman sejawat saya di UKK Endokrinologi Anak PP IDAI (Ikatan Dokter Anak Indonesia) yang telah memberikan bimbingan serta semangat, terima kasih yang tak terhingga telah kebersamaan, menua bersama mengabdikan ilmu endokrinologi untuk anak-anak Indonesia.

Seluruh teman seperjuangan di Program Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah bekerjasama. saling memberikan motivasi dan semangat untuk menyelesaikan pendidikan ini. Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada Dr. Sutopo, drg.; Dr. Reny I'tishom, S.Pi; Ibu Adhri, Ibu Asmunah, Ibu Fitri, Ibu Mita dan semua staf di Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, atas bantuannya kepada saya dalam kelancaran administrasi pendidikan. Akhirnya dalam kesempatan ini saya sampaikan rasa

hormat dan kasih sayang saya kepada : Orang tua saya ayahanda Drs. Abdul Hamid Rahimahullah dan ibunda Sholicha yang telah memberikan kasih sayangnya yang tulus, pendidikan agama, dan senantiasa menyertai dalam do'a penghargaan tertinggi saya sampaikan atas pencapaian pendidikan saya selama ini. Juga kepada Ayah mertua saya Drs Afghon Andjasmoro Rahimahullah dan ibu mertua saya ibu Sholicha. Kepada saudara saya kandung Dra. Maria Ulfa; Drs. Agus Maulidy; Elis Kurniati, SH; dan Abdul Haris yang selalu membantu dalam menjalani kehidupan dan pendidikan. Khusus kepada istri tercinta Liza Amalia, dr, dan anak-anak beserta menantu tercinta Adam Ahmad Muzakky, SST dan Syafira, SE; Amirah Firdausy, dr. dan Aufi Fillah, dr.; serta Hafidhatul Aisy, ucapan terima kasih saya sampaikan atas cinta kasih, dukungann, motivasi dan pengertian yang diberikan selama saya menempuh studi.

Terimakasih saya sampaikan kepada semua pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, yang telah memberi motivasi, dukungan dan membantu hingga disertasi ini dapat disusun. Semoga hasil penelitian ini bermanfaat bagi umat manusia pada umumnya dan ilmu kedokteran pada khususnya, semoga Allah Subhana wa Ta'alla melimpahkan taufik dan hidayahnya kepada semua pihak yang telah membantu penyelesaian disertasi ini. Aamiin Ya Robbal 'Alamin.

RINGKASAN

POLIMORFISME GEN CTLA-4 DAN GEN PTPN-22, POSITIFITAS ANTI-THYROID PEROXIDASE DAN ANTI-THYROGLOBULIN, SERTA KADAR T3, DAN FT4: STUDI PADA ANAK SINDROM DOWN

MUHAMMAD FAIZI

Sindrom Down (SD) merupakan kelainan kromosom yang paling sering terjadi, sebagian besar disebabkan oleh Trisomi kromosom 21. Insiden SD secara global menurut WHO adalah antara 1-10 dalam 1000 kelahiran hidup (Al-Biltagi, 2015). Prevalensi SD di Indonesia sebesar 1,2 pada tahun 2010 dan sebesar 1,3 pada tahun 2013 per 1000 untuk anak usia 24-49 bulan (RISKESDAS Kemenkes RI, 2014). Berbagai masalah kesehatan sering dikaitkan dengan SD termasuk gangguan pertumbuhan dan perkembangan, perilaku dan kejiwaan, kelainan mata, jantung, pernafasan, saluran pencernaan, hematologi, endokrin, serta imunologi. Disfungsi tiroid merupakan kelainan endokrin yang sering terjadi pada 30% anak SD pada saat lahir, dengan frekuensi meningkat menjadi 49% pada anak-anak SD usia 10 tahun (Iughetti dkk., 2014). Disfungsi tiroid pada anak dengan SD disebabkan oleh faktor genetik dan lingkungan. Disregulasi sistem kekebalan tubuh pada anak SD dianggap sebagai penyebab peningkatan prevalensi berbagai kondisi autoimun, termasuk penyakit tiroid autoimun (TAI) yang ditandai adanya antibodi tiroid (Graber dkk., 2012).

Polimorfisme gen *Cytotoxic T-lymphocyte associated antigen 4* (CTLA-4) dan *protein tyrosine phosphatase non- receptor type 22* (PTPN-22) merupakan dua dari banyak polimorfisme gen pengatur imun yang banyak dilaporkan menyebabkan TAI pada populasi normal non-SD.

Tujuan penelitian ini adalah membuktikan peran polimorfisme gen CTLA-4, gen PTPN-22, positifitas *anti-thyroid peroxidase*, *anti-thyroglobulin*, serta kadar T3 dan FT4 dalam terjadinya penyakit tiroid autoimun pada sindrom Down.

Metode penelitian ini adalah potong lintang observasional analitik meliputi anak SD terdiri dari laki-laki dan perempuan usia 1 bulan – 18 tahun yang berobat di unit rawat jalan atau yang dirawat di instalasi rawat inap Dept/SMF Ilmu Kesehatan Anak RSUD Dr. Soetomo pada bulan April 2020 hingga Februari 2021. Anak SD yang dikonfirmasi dengan *karyotyping* dan orang tuanya bersedia menandatangani lembar persetujuan.

Variable yang diteliti adalah polimorfisme gen CTLA-4, gen PTPN-22, positifitas *anti-thyroid peroxidase*, *anti-thyroglobulin*, serta kadar T3 dan FT4. Hubungan antara 2 variabel dilakukan analisis multivariat menggunakan regresi logistik untuk mengetahui faktor risiko terjadinya penyakit tiroid autoimun pada anak dengan SD. Penelitian ini mendapat persetujuan komite etik RSUD Dr. Soetomo dengan no 1960/KEPK/IV/2020. Analisis data dilakukan dengan bantuan *software SPSS 17*.

Subjek penelitian ini sebanyak 31 pasien anak SD. Terdiri dari 19 anak laki-laki dan 12 anak perempuan. Usia rerata subjek dalam penelitian ini adalah 19,45 bulan. Umur termuda berumur 1 bulan dan tertua 53 bulan saat dilakukan

pengambilan subjek. Berat badan lahir subjek rerata seberat 2920,97 gram. Sementara berat badan dan tinggi badan subjek saat dilakukan pengambilan subjek rerata sebesar 7,66 kg dan 72,85 cm.

Genotipe pada polimorfisme PTPN-22 C1858T seluruhnya adalah CT 31 (100%), tidak ditemukan genotipe CC maupun TT. Genotipe pada polimorfisme CTLA-4 C60T ditemukan adalah GG 14(45,2%), AA 5(16,1%), dan AG 12(38,7%). Genotip polimorfisme CTLA-4 C1822T berada pada CT 15 (48.4%), TT 10 (32.3%), dan CC 6 (19.4%).

Rerata kadar T3 subjek adalah 1,59 ng/mL sedangkan rerata kadar FT4 adalah 0,81 ng/mL. Namun bila dikaitkan dengan nilai rujukan sesuai umur, 30 (96,8%) subjek penelitian ini mempunyai kadar T3 dan FT4 yang lebih rendah dan 1 pasien mempunyai kadar T3 dan FT4 normal. Interpretasi tes fungsi tiroid berdasarkan rujukan nilai normal sesuai usia subjek yang dihubungkan pasangan kadar TSHnya; terdiri dari 26 subjek hipotiroid sentral, 4 hipotiroid primer, dan 1 hipotiroid subklinik.

Sebanyak 96,8% terkait dengan penyakit TAI ditandai dengan munculnya antibodi tiroid Anti-TPO dan Anti-TG berdasarkan nilai rujukan. Antibodi TPO positif 18 subjek (58,1%), dan 13 subjek (41,9%) memiliki antibodi TPO negatif. Hasil anti-TPO, sebanyak 30 (96,8%) subjek memiliki anti-TG positif dan 1 (3,2%) anti-TG negatif. Subjek dengan gabungan anti-TPO dan anti-TG positif sebanyak 18 (58,1%). Terdapat 1 subjek yang tidak terkait penyakit TAI (3,2%).

Berdasarkan analisis uji statistik menggunakan regresi logistik menunjukkan bahwa tidak ada hubungan bermakna antara CTLA-4 C1822T, CTLA-4 C60T, dan PTPN-22 dengan penyakit TAI pada anak SD. Tidak ada hubungan antara positifitas marker autoimun dengan kadar T3 dan FT4 pada anak SD.

Dari hasil penelitian ini menghasilkan kesimpulan: terbukti bahwa tipe polimorfisme PTPN-22 C1858T yang ditemukan pada anak SD seluruhnya adalah genotipe CT. Tipe polimorfisme gen CTLA-4 C60T yang paling banyak ditemukan pada anak SD adalah genotipe GG, sedangkan genotipe AA dan AG ditemukan dengan frekuensi yang lebih rendah. Tipe polimorfisme gen CTLA-4 C1822T yang paling banyak ditemukan pada anak SD adalah genotipe CT, sedangkan genotipe TT dan CC ditemukan dengan frekuensi yang lebih rendah. Positifitas Anti-TPO anak SD pada anak SD cenderung tinggi. Positifitas Anti-TG pada anak SD cenderung tinggi. Kadar T3 pada anak SD lebih rendah dibandingkan dengan rujukan nilai normal. Kadar FT4 pada anak SD lebih rendah dibandingkan dengan rujukan nilai normal. Tidak ditemukan hubungan antara polimorfisme gen CTLA-4 dan PTPN-22 dengan positifitas *anti-thyroid peroxidase enzyme*, *anti-thyroglobulin*, serta kadar T3 dan FT4 pada anak sindrom down.

SUMMARY

CTLA-4 AND PTPN-22 GENE POLYMORPHISMS, POSITIVITY OF ANTI-THYROID PEROXIDASE AND ANTI-THYROGLOBULIN, T3 AND FT4 LEVEL: A STUDY IN CHILDREN WITH DOWN SYNDROME

MUHAMMAD FAIZI

Down syndrome (DS) is the most common chromosome abnormality, mostly caused by a chromosome of 21. The global incidence of DS according to WHO is between 1-10 in 1000 live births (Al-Biltagi, 2015). According to RISKESDAS, the prevalence of DS children aged 24-49 months in Indonesia was 0,12% in 2010 and 0,13% in 2013 (Kemenkes RI, 2014). Various health problems are often associated with DS including growth and development disorders, behavior and psychology, eye, heart, respiratory, digestive, hematological, endocrine, and immunological disorders. Thyroid dysfunction is an endocrine disorder that often occurs in 30% of DS children at birth, with the frequency increasing to 49% in DS children aged 10 years (Iughetti et al., 2014). Thyroid dysfunction in children with DS is caused by genetic and environmental factors. Dysregulation of the immune system in DS children is considered to be the cause of the increased prevalence of various autoimmune conditions, including autoimmune thyroid disease (AITD) which is characterized by the presence of thyroid antibodies (Graber et al., 2012).

Cytotoxic T-lymphocyte associated antigen 4 (CTLA-4) and protein tyrosine phosphatase non-receptor type 22 (PTPN-22) gene polymorphisms are two of the many immune regulatory gene polymorphisms that have been reported to cause AITD in non-DS normal populations.

The purpose of this study was to analyze the role of CTLA-4 and PTPN-22 gene polymorphisms, positivity of anti-thyroid peroxidase (Anti-TPO) and anti-thyroglobulin (Anti-TG), and levels of T3 and FT4 in the occurrence of AITD in DS children.

This research is a cross-sectional analytic observational study involving 31 DS children aged 1 month - 18 years treated in outpatient and inpatient unit at Dr. Soetomo General Hospital Surabaya from April 2020 to February 2021. Research subject diagnosed with DS was confirmed using karyotyping and the parents were willing to sign the consent form.

The variables analyzed in this study were CTLA-4 and PTPN-22 gene polymorphisms, positivity of Anti-TPO and Anti-TG, and levels of T3 and FT4. The correlation between the two variables was carried out by multivariate analysis using logistic regression to determine the risk factors for autoimmune thyroid disease in children with DS. This research was approved by the ethics committee of Dr. Soetomo General Hospital Surabaya with number 1960/KEPK/IV/2020. Data analysis was carried out using SPSS 17 software.

Research subjects consists of 19 boys and 12 girls with mean age of the subjects was 19.45 months, 1 month old as the youngest and the oldest was 53 months. The average subject's birth weight was 2920.97 grams. The weight and

height of the subjects at the time of data collection had an average of 7.66 kg and 72.85 cm respectively.

The genotype of the PTPN-22 C1858T polymorphism was all CT 31 (100%), neither CC nor TT genotypes were found. The genotypes found in the CTLA-4 C60T polymorphism were GG 14 (45.2%), AA 5 (16.1%), and AG 12 (38.7%). The genotype of the CTLA-4 C1822T polymorphism was CT 15 (48.4%), TT 10 (32.3%), and CC 6 (19.4%).

Mean T3 and FT4 level measured was 1.59 ng/mL and 0.81 ng/mL respectively. However, in terms of age-associated reference values, 30 (96.8%) subjects in this study had low T3 and FT4 levels and 1 patient had normal T3 and FT4 levels. Interpretation of thyroid function tests based on age-associated reference values in relation to their TSH levels; 26 of subjects had central hypothyroid, 4 subjects had primary hypothyroid, and 1 subclinical hypothyroid subjects.

A total of 96.8% subjects were associated with AITD characterized by the presence of positive Anti-TPO and Anti-TG. Anti-TPO was found in 18 (58.1%) subjects and 30 (96.8%) subjects had positive Anti-TG, while 18 (58.1%) subjects tested positive for both Anti-TPO and Anti-TG. There was 1 (3.2%) subject who is not related to AITD.

Based on statistical analysis using logistic regression showed that there was no significant correlation between gene polymorphisms of CTLA-4 C1822T, CTLA-4 C60T, and PTPN-22 with AITD in DS children. There was also no significant correlation between the positivity of autoimmune markers with T3 and FT4 levels in DS children.

From the results of this study It is proven that the PTPN-22 C1858T gene polymorphism found in this study were all CT genotypes. The type of CTLA-4 C60T gene polymorphism that is most commonly found in DS children is the GG genotype, while the AA and AG genotypes are found with a lower frequency. The most common type of CTLA-4 C1822T gene polymorphism found in DS children was the CT genotype, while the TT and CC genotypes were found with a lower frequency. The positivity of Anti-TPO in DS children tends to be high. The positivity of Anti-TG in DS children tends to be high. The T3 level in DS children is lower than the normal age-associated reference values. The FT4 level in DS children is lower than the normal age-associated reference values. There was no association between CTLA-4 and PTPN-22 gene polymorphisms with positivity of anti-thyroid peroxidase enzyme (Anti-TPO) and anti-thyroglobulin (Anti-TG), and levels of T3 and FT4 in DS children.

ABSTRACT

CTLA-4 AND PTPN-22 GENE POLYMORPHISMS, POSITIVITY OF ANTI-THYROID PEROXIDASE AND ANTI-THYROGLOBULIN, T3 AND FT4 LEVELS: A STUDY IN CHILDREN WITH DOWN SYNDROME

MUHAMMAD FAIZI

Background The Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4) and Protein Tyrosine Phosphatase Non Receptor Type 22 (PTPN-22) gene polymorphisms were often associated with the development of autoimmune thyroid disease (AIT) in the normal population. However, it has not been widely studied in the Down syndrome (SD) population.

Aims To prove the role of CTLA-4 gene, PTPN-22 gene polymorphisms, anti-thyroid peroxidase and anti-thyroglobulin positivity, T3, and FT4 levels in the occurrence of autoimmune thyroid disease in SD

Methods The research design was cross-sectional, which was conducted from April 2020 to February 2021, with 31 SD samples aged one month-18 year. CTLA-4 and PTPN-22 gene polymorphisms were analyzed by using PCR-RFLP. Anti-TPO and anti-TG were analyzed by using ELISA. FT4 and T3 were analyzed by using ELISA. Correlation between 2 variables was analyzed using logistic regression with SPSS 17 software.

Results and analysis In SD children, CT was only found in PTPN-22 31 (100%), not found in CC or TT. The most common CTLA-4 C60T polymorphism was GG 14 (45.2%), followed by AA 5(16,1%), and AG 12 (38,7%) and The most common CTLA-4 C1822T was CT 15 (48.4%), followed by TT 10 (32,3%), and CC 6 (19,4%). All subjects had thyroid dysfunction. 96.8% of the cases related to AIT were by the presence of thyroid antibodies. TPO antibody positive 18 (58.1%), Anti-TG positive 30 (96.8%). Subjects with both Anti-TPO and TG positive 18 (58.1%). The levels of FT4 and T3 were 0.81 ± 0.57 ng/mL and 1.59 ± 0.45 ng/mL respectively. Twenty-six subjects with central hypothyroidism, four primary hypothyroidism, and one subclinical hypothyroidism. There was no correlation between CTLA-4 C1822T, CTLA-4 C60T with anti-TPO and anti-TG. Correlation between PTPN-22 C1858T with anti-TPO and anti-TG can not be conducted because of the homogenous variables. There was no correlation between anti-TPO and anti-TG with FT4. Correlation between anti-TPO and anti-TG with T3 can not be conducted because of homogenous variables.

Conclusions There was no correlation between CTLA-4 C60T and CTLA-4 C1822T and or PTPN-22 C1858T genes polymorphism toward anti-TPO, anti-TG positivity, and there was no correlation between anti-TPO, anti-TG toward T3 and FT4 levels. This study strengthens the theory that the cause of AIT in SD is not only determined by genetic polymorphisms of related genes (CTLA-4 and or PTPN-22) but more polygenetic. This study needs to be followed up with research with a case-control or cohort design involving a wider range of subjects and multiple centers.

Keywords: SD, AIT, CTLA-4 gene polymorphism, PTPN-22 gene polymorphism, antibody

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN AWAL	ii
HALAMAN PRASYARAT GELAR DOKTOR.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN.	iv
PENETAPAN PANITIA PENGUJI	v
ORISINALITAS PENELITIAN.....	vi
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vii
RINGKASAN	xii
<i>SUMMARY</i>	xiv
<i>ABSTRACT</i>	xvi
DAFTAR ISI.....	xvii
DAFTAR TABEL	xxii
DAFTAR GAMBAR	xxiii
DAFTAR LAMPIRAN	xxiv
DAFTAR SINGKATAN	xxvi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan umum	4
1.3.2 Tujuan khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat teoritis.....	5

1.4.2 Manfaat praktis	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Sindrom Down	7
2.1.1 Definisi Sindrom Down	7
2.1.2 Epidemiologi Sindrom Down	8
2.1.3 Manifestasi Klinik Sindrom Down	9
2.1.4 Diagnosis Sindrom Down	16
2.2 Penyakit Tiroid Autoimun pada Sindrom Down	19
2.2.1 Tiroiditis Hashimoto	20
2.2.2 Penyakit Graves	22
2.3 Hubungan Genetik dan Imunologi Penyakit Tiroid Autoimun pada Sindrom Down	25
2.4 <i>Cytotoxic T-lymphocyte-associated Antigen 4 (CTLA-4)</i>	28
2.4.1 Gen dan protein CTLA-4	28
2.4.2 Aktivasi sel T dan CTLA-4.....	29
2.4.3 Polimorfisme CTLA-4 dan penyakit tiroid autoimun.....	32
2.5. <i>Protein Tyrosine Phosphatase Non-receptor 22 (PTPN-22)</i>	34
2.5.1 Gen PTPN-22 dan protein Lyp	34
2.5.2 PTPN-22 dan reaksi imun	36
2.5.3 Polimorfisme PTPN-22 dan penyakit tiroid autoimun	37
2.6 <i>Marker</i> Tiroid autoimun.....	38
2.6.1 Antibodi anti- <i>thyroid peroxidase</i>	38
2.6.2 Antibodi anti-thyroglobulin	41
2.7 Laboratorium untuk Diagnosis Disfungsi Tiroid	42

2.8 Pemeriksaan <i>Polymerase chain reaction</i>	44
2.8.1 Definisi <i>Polymerase chain reaction</i>	44
2.8.2 Prinsip <i>Polymerase chain reaction</i>	45
2.8.3 Prosedur <i>Polymerase chain reaction</i>	46
2.8.4 Kelebihan dan Kekurangan <i>Polymerase chain reaction</i>	47
2.8.5 Aplikasi dari Pemeriksaan <i>Polymerase chain reaction</i>	47
2.8.6 <i>Polymerase chain reaction</i> – restriction fragment length polymorphism.....	48
2.9 Pemeriksaan <i>Enzyme-linked immunosorbent Assay</i>	49
2.9.1 Definisi <i>Enzyme-linked immunosorbent Assay</i>	50
2.9.2 Klasifikasi <i>Enzyme-linked immunosorbent Assay</i>	50
2.9.3 Kelebihan dan Kekurangan <i>Enzyme-linked immunosorbent Assay</i>	50
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	51
3.1 Kerangka Konseptual	51
3.2 Hipotesis.....	53
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	54
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	54
4.2 Populasi, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel.....	54
4.2.1 Populasi	54
4.2.2 Besar sampel	54
4.2.3 Teknik pengambilan sampel	55
4.3 Variabel Penelitian	56
4.3.1 Klasifikasi variabel	56
4.3.2 Definisi operasional	56
4.4 Materi Penelitian	59

4.5 Instrumen Penelitian	59
4.6 Lokasi dan Waktu penelitian.....	60
4.6.1 Lokasi penelitian	60
4.6.2 Waktu penelitian	60
4.7 Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data	61
4.7.1 Protokol penelitian	61
4.7.2 Prosedur pengambilan data	61
4.7.3 Prosedur pengumpulan data	66
4.8 Pengolahan dan Analisis Data.....	66
BAB 5 HASIL PENELITIAN	67
5.1 Data Penelitian	67
5.2 Karakteristik Subjek.....	68
5.3 Hasil Karyotyping	69
5.4 Hasil Pemeriksaan Gen PTPN-22, CTLA-4 C60T CTLA-4 C1822T	69
5.5 Hasil Pemeriksaan Penanda Auto Antibodi dan Kadar Hormon Tiroid (T3 dan FT4	73
5.6.Distribusi Hasil Pemeriksaan CTLA C1822T, CTLA-40, dan PTPN-22 terhadap Anti-TPO dan Anti-TG	74
5.7.Hasil Pemeriksaan Anti-TPO dan Anti-TG terhadap kadar T3 dan FT4.....	76
5.8.Analisis Jalur	77
BAB 6 PEMBAHASAN	80
6.1.Karateristik Subjek.....	80
6.2.Polimorfisme gen CTLA-4	82
6.3.Polimorfisme Gen PTPN-22	83

6.4. <i>Marker</i> Tiroid.....	87
6.4.1.Anti-TPO dan Anti-TG	87
6.4.2.T3 dan FT4.....	89
6.5.Temuan baru.....	92
6.6.Keterbatasan Penelitian.....	93
BAB 7 PENUTUP	94
7.1.Kesimpulan	94
7.2.Saran	95
DAFTAR PUSTAKA	96
LAMPIRAN.....	106

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2. 1 Problem medis yang umum terjadi pada pasien sindrom Down.....	13
Tabel 2. 2 Skor Sindrom Down.....	17
Tabel 2. 3 Tanda dan gejala anak dengan penyakit Graves	25
Tabel 2. 4 Perbedaan jenis ELISA menurut tahapannya.....	50
Tabel 4.1 Rentang normal kadar T3, FT4.....	58
Tabel 5.1 Karakteristik Subjek Penelitian.....	68
Tabel 5.2 Data Usia beserta Antropometri Subjek dan Kontrol Penelitian	68
Tabel 5.3 Hasil Karyotyping Penderita Sindrom Down	69
Tabel 5.4 Gen PTPN-22, CTLA-4 C60T dan CTLA-4 C1822T pasien sindrom Down di RSUD Dr. Soetomo tahun 2019-2020	69
Tabel 5.5 Tabel Penanda Auto Antibodi Tiroid.....	73
Tabel 5.6 Kadar Hormon Tiroid (T3 dan FT4).....	74
Tabel 5.7 Anti-TPO dan TG dengan PTPN-22 C1858T	74
Tabel 5.8 Anti-TPO dan Anti-TG dengan CTLA-4 C60T.....	75
Tabel 5.9 Anti-TPO dan TG dengan CTLA C1822T	74
Tabel 5.10 Asosiasi Polimorfisme dengan Penanda Autoimun.....	76
Tabel 5.11 Korelasi kadar Anti-TPO dan Anti-TG dengan kadar T3 dan FT4	76
Tabel 5.12 Tabel Korelasi Kadar Hormon Tiroid dengan Penanda Autoimun.....	76
Tabel 5.13 Distribusi Fungsi Tiroid.....	79
Tabel 5.14 Asosiasi Fungsi Tiroid dengan Penanda Antibodi.....	79

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2. 1 Kariotipe Trisomi 21 (NDSS, 2012)	8
Gambar 2. 2 Karakter wajah sindrom Down (CDC, 2018).....	9
Gambar 2. 3 Simian crease pada sindrom Down (Ostermaier, 2018).....	10
Gambar 2. 4 (a) Karyotyping anak perempuan sindrom Down	19
Gambar 2. 5 Gen CTLA-4 pada lokasi genom 2q33.2 (NCBI,2019a)	29
Gambar 2. 6 Sinyal aktivasi sel T (Vaidya and Pearce, 2004).....	30
Gambar 2. 7 Skema letak polimorfisme gen CTLA-4 (Ligers dkk., 2001).	33
Gambar 2. 8 Gen PTPN-22 pada lokasi genom 1p13.2 (NCBI, 2019b).....	34
Gambar 2. 9 Skema struktur protein PTPN-22 (Bottini and Petterson, 2014).....	35
Gambar 2. 10 Skema fungsi Lyp pada jalur sinyal TCR (Vang dkk., 2007)	37
Gambar 2. 11 Struktur PTPN-22 dengan 2 transkrip isoform dan 6 polimorfisme nukleotida tunggal	38
Gambar 2. 12 Karakteristik thyroidperoxidase (TPO), glikoprotein, membranebound, ~220 KDa (Homo-Dimer)	39
Gambar 2. 13 Prevalensi antibodi anti-thyroglobulin dan antibodi anti- thyroidperoxidase	40
Gambar 2. 14 Karakteristik thyroglobuline (Tg), glikoprotein.....	42
Gambar 3. 1 Kerangka Konseptual	51
Gambar 4. 1 Skema rancangan penelitian.....	54
Gambar 4. 2 Alur penelitian.....	61

Gambar 5. 1 Alur Data Penelitian Sampel.	68
Gambar 5. 2 Grafik PTPN-22	70
Gambar 5. 3 Grafik CTLA-4 C60T.....	70
Gambar 5. 4 Grafik CTLA-4 CT 1882.....	71
Gambar 5. 5 Hasil elektroforesis PCR-RFLP polimorfisme PTPN-22 varian C1858T	72
Gambar 5. 6 Hasil elektroforesis PCR-RFLP polimorfisme CTLA-4 C60T.....	72
Gambar 5. 7 Hasil Elektroforesis Dari PCR RFLP Pada CTLA-4 C1822T	73
Gambar 5. 8 Analisis Jalur Penelitian	77

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Penjelasan informasi (Information for consent)	106
Lampiran 2. Pernyataan persetujuan (Informed Consent)	112
Lampiran 3. Pernyataan Persetujuan Tindakan Medis	114
Lampiran 4. Pernyataan pengunduran diri	116
Lampiran 5. Komite Etik	117
Lampiran 6. Lembar pengumpulan data	118
Lampiran 7. Pemeriksaan ELISA ANTI-TPO	124
Lampiran 8. Pemeriksaan ELISA ANTI-TG	129
Lampiran 9. Pemeriksaan ELISA CTLA-4	134
Lampiran 10. Pemeriksaan ELISA FT4	140
Lampiran 11. Pemeriksaan ELISA T3	149
Lampiran 12. PTPN-22, CTLA-4 C1822T, CTLA-4 C60T, Anti-TPO, Anti-TG, dan Thyroid Function Test	154
Lampiran 13. Letter of Acceptance (LOA) Artikel	156
Lampiran 14. Analisa Statistik	178

DAFTAR SINGKATAN

A	: Arginin
AAP	: <i>American Academy of Pediatrics</i>
ACTH	: <i>Adrenocorticotrophic hormone</i>
AIRE	: <i>Autoimmune regulatory</i>
APC	: <i>Antigen presenting cell</i>
ASD	: <i>Atrial Septal Defect</i>
ATD	: <i>Anti thyroid drug</i>
BB	: <i>Berat Badan</i>
BBL	: <i>Berat Badan Lahir</i>
BTLA	: <i>B and T Lymphocyte Attenuator</i>
C	: <i>Sitosin</i>
cm	: <i>Centimeter</i>
cAMP	: <i>Adenosina Monofosfat Siklik</i>
CAVSD	: <i>Complete Atrioventricular Septal Defect</i>
CD	: <i>Cluster differentiation</i>
CTLA-4	: <i>Cytotoxic T-lymphocyte antigen 4</i>
Da	: <i>Dalton</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
dATP	: <i>Deoxyadenosine triphosphate</i>
dCTP	: <i>Deoxycytidine triphosphate</i>
dGTP	: <i>Deoxyguanosine triphosphate</i>
dNTPs	: <i>Deoxynucleotide triphosphates</i>
dTTP	: <i>Deoxythymidine triphosphate</i>
ELISA	: <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
FISH	: <i>Interphase fluorescent in situ hybridization</i>
FT4	: <i>Free tiroksin</i>
FOXP3	: <i>Forkhead box p3</i>
g	: <i>gram</i>
GH	: <i>Growth Hormone</i>
GO	: <i>Graves' Ophthalmopathy</i>
HLA	: <i>Human leucocyte antigens</i>
ICOS	: <i>Inducible Co-stimulator</i>
IDAI	: <i>Ikatan Dokter Anak Indonesia</i>
IFN	: <i>Interferon</i>
Ig	: <i>Immunoglobulin</i>
IGF-1	: <i>Insulin like Growth Factor 1</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
IQ	: <i>Intelligence Quotient</i>
I ₂	: <i>Iodin</i>
ITAM	: <i>Immunoreceptor Tyrosine Activation Motif</i>
kb	: <i>kilobase</i>
kDa	: <i>kilodalton</i>
kg	: <i>kilogram</i>
LAT	: <i>Linker Activation T Cells</i>
Lyp	: <i>Lymphoid-specific tyrosine phosphatase</i>

MAPK	: <i>Mitogen Activated Protein Kinase</i>
MHC	: <i>Molecul Histocompatibility Complex</i>
mRNA	: <i>Messenger Ribonucleic Acid</i>
NF-AT	: <i>Nuclear Factor of Activated T</i>
NF – kB	: <i>Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i>
NRPTs	: <i>Non-Receptor Protein tyrosine phosphatase</i>
PAVSD	: <i>Partial Atrioventricular Septal Defect</i>
PCR	: <i>Polymerase chain reaction</i>
PCR-RFLP	: <i>Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism</i>
PDA	: <i>Patent Ductus Arteriosus</i>
PD – 1	: <i>Programmed death-1</i>
PG	: <i>Penyakit Graves</i>
PTM	: <i>Pretibial mixedema</i>
PTPs	: <i>Protein tyrosine phosphatase</i>
PTPN-22	: <i>Protein tyrosine phosphatase non-receptor type 22 polymorphism</i>
pTyr	: <i>Fosfotirosin</i>
QF-PCR	: <i>Quantitative Fluorescence-Polymerase chain reaction</i>
RISKESDAS	: <i>Riset Kesehatan Dasar</i>
RT	: <i>reverse transcriptase</i>
SD	: <i>Sindrom Down</i>
SH3	: <i>Src homolog 3</i>
SNP	: <i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
T	: <i>Timin</i>
TA	: <i>Toxic Adenoma</i>
TAI	: <i>Tiroid Autoimun</i>
TBII	: <i>Thyrotropin Binding Inhibitory Immunoglobulin</i>
Tc	: <i>T-cytotoxic</i>
TCR	: <i>T-cell receptor</i>
TG	: <i>Thyroglobulin</i>
Th	: <i>T-helper</i>
TH	: <i>Tiroiditis Hashimoto</i>
TMNG	: <i>Toxic Multinodular Goiter</i>
TNF	: <i>Tumor necrosis factor</i>
TOF	: <i>Tetralogy of Fallot</i>
TPO	: <i>Thyroid peroxidase</i>
TRAb	: <i>Thyrotropin receptor antibody</i>
TSHR	: <i>Thyroid stimulating hormone release</i>
T3	: <i>Triiodotironin</i>
T4	: <i>Tiroidsin</i>
UKK	: <i>Unit Kerja Koordinasi</i>
USG	: <i>Ultrasonography</i>
W	: <i>Triptofan</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>
ZAP70	: <i>Zeta- chain Associated Proteinkinase</i>