

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Celah orofasial merupakan kelainan kongenital yang cukup sering terjadi dan mempengaruhi struktur wajah. Celah orofasial diklasifikasikan menjadi tipe sindromik dan non-sindromik.¹ Celah orofasial non-sindromik adalah celah orofasial yang tidak disertai kelainan kongenital atau sindrom lainnya, sedangkan celah orofasial sindromik disertai dengan kelainan kongenital atau sindrom lain.² Celah orofasial terjadi akibat kegagalan proses fusi selama perkembangan kraniofasial pada bibir atas, langit atau keduanya.³ Celah orofasial non-sindromik ini terjadi secara unilateral, bilateral, komplit atau inkomplit dan dapat melibatkan bibir saja atau celah bibir (CB), langit saja atau celah langit (CL) dan melibatkan keduanya atau celah bibir dan langit (CB/L).⁴ Pada beberapa literatur, CB dan CB/L dipertimbangkan sebagai varian dari defek yang sama, CB/L disebut juga sebagai CB komplit, yaitu CB yang meluas meliputi bibir, alveolar dan langit primer.⁵

Insidensi celah orofasial bervariasi berdasarkan faktor geografis, ras dan status sosial ekonomi, rata-rata 1 dari 700 bayi baru lahir atau 0,5–2,6 per 1.000 kelahiran hidup.³ Prevalensi kelainan kongenital ini di Asia dan Amerika dilaporkan terjadi pada 1 dari 500 kelahiran hidup, di Eropa 1 dari 1.000 kelahiran hidup dan di Afrika 1 dari 2.500 kelahiran hidup.⁶ Celah orofasial tipe non-sindromik ditemukan sebanyak 60%-70% kasus dan tipe sindromik ditemukan sebanyak 30%-40% kasus.⁷ Celah bibir dan langit (CB/L) merupakan kasus yang sering terjadi yaitu sekitar 45-50%, CL sebanyak 25-30% kasus dan CB sekitar 25% kasus.⁵ Kejadian celah orofasial diasumsikan lebih tinggi di negara-negara berkembang.⁸ Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2018 sebanyak 0,12% anak-anak menderita celah bibir.⁹ Kejadian celah orofasial juga berbeda antar jenis kelamin, CB terbukti lebih banyak terjadi pada laki-laki dibandingkan perempuan dengan rasio 2:1, sedangkan CL lebih banyak terjadi pada perempuan dibandingkan laki-laki dengan rasio 1:2.¹⁰

Etiologi dari celah orofasial adalah faktor genetik, lingkungan dan interaksi antara genetik dengan lingkungan. Bukti literatur ilmiah menunjukkan bahwa faktor lingkungan seperti ibu hamil yang merokok dan konsumsi alkohol, konsumsi obat kejang, defisiensi asam folat, infeksi dan faktor keturunan merupakan faktor risiko celah bibir dan langit. ^{10,11} Pada beberapa dekade terakhir hubungan faktor genetik dengan lingkungan terhadap kejadian celah orofasial telah menjadi subjek penelitian. Etiologinya sangat kompleks, sejumlah besar gen kandidat dan lokus dengan fungsi bervariasi terbukti terlibat dalam kejadian celah orofasial. ⁴

Banyak gen ditemukan meningkatkan risiko celah orofasial non-sindromik termasuk gen yang terlibat dalam respon imun yaitu : *Poliovirus Receptor Related-1* (PVLRL1) dan *Interferon regulatory factor 6* (IRF6), gen mengkode faktor pertumbuhan seperti TGF α dan TGF- β 3, faktor transkripsi seperti *Msh Homeobox* (MSX1) dan *T-Box Transcription Factor 22* (TBX22), gen yang terlibat dalam metabolisme xenobiotik seperti *Cytochrome P450 Family 1 Subfamily A member 1* (CYP1A1), *Glutathione S-transferase* (GSTM1) dan *N-Asetiltransferase 2* (NAT2) pengambilan gen bagian dalam metabolisme nutrisi seperti *Methylenetetrahydrofolate reductase* (MTHFR) dan *Retinoic Acid Receptor Alpha* (RARA), dan gen yang Berdasarkan urutan gen dan lokus yang paling signifikan dalam kejadian celah orofasial non-sindromik adalah IRF6, *MAF bZIP Transcription Factor B* (MAFB), *Paired Box 7* (PAX7), *Forkhead Box E1* (FOXE1), *Msh Homeobox 1* (MSX1), *T-Box Transcription Factor 22* (TBX22) dan MTHFR. ⁴

Perkembangan bibir dan langit terjadi melalui proses morfogenesis, jalur pensinyalan molekuler, interaksi epitel mesenkim dan proses fusi langit. ¹² Salah satu jalur pensinyalan yaitu *Transforming Growth Factors* (TGF) telah diidentifikasi sebagai mediator pertumbuhan sel, proliferasi, migrasi, apoptosis, dan interaksi *Epithelial-Mesenchymal Transition* (EMT). Disregulasi jalur pensinyalan ini dapat menimbulkan variasi genetik yang diduga terkait erat dengan kejadian celah orofasial. ⁴ Hilangnya *Transforming Growth Factors* β 3 (TGF- β 3) menyebabkan elevasi dan ekstensi langit terhenti dan terganggu. ¹³ Selain itu, ikatan Smad pada jalur pensinyalan TGF- β merupakan penentu penting untuk mengatur proliferasi dan diferensiasi keratinosit dan sangat penting selama

perkembangan orofasial terutama dalam adhesi dan fusi sel selama pembentukan bibir dan palatogenesis awal.¹⁴ Penelitian sebelumnya mengatakan bahwa sebuah eksperimen telah mengungkapkan bahwa pensinyalan TGF- β merupakan kunci dari ekspresi gen *Interferon Regulatory Factor 6* (IRF6).¹⁵

Gen IRF6 merupakan faktor transkripsi yang termasuk dalam *family* IRF yang memediasi respons interferon setelah infeksi virus.¹⁶ Di antara beberapa kandidat gen yang diperkirakan berkontribusi terhadap celah orofasial, gen IRF6 pada kromosom 1q32.3-q41 merupakan elemen kunci dalam masalah mulut dan maksilofasial dan merupakan salah satu kandidat gen yang terkait dengan pembentukan celah orofasial non-sindromik. Gen IRF6 merupakan satu dari sembilan faktor transkripsi yang mengkode faktor transkripsi yang terdiri dari domain pengikatan *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) *heliks-turn-heliks* yang sangat terkonservasi dan domain pengikatan protein yang kurang terkonservasi.^{17,18,14} Gen ini diekspresikan pada *Medial Epithelial Edge* (MEE) dari lelangit sekunder dan ditemukan dalam level yang tinggi pada lapisan ektoderm pada perkembangan wajah primordial khususnya bibir dan lelangit primer. Adanya gangguan IRF6 pada periode embriologi berpotensi pada kejadian celah orofasial non-sindromik.¹⁹

Gen IRF6 juga mempengaruhi variasi kraniofasial lain seperti hidung dan bibir atas. Studi sebelumnya mengatakan terdapat hubungan polimorfisme IRF6 dengan morfologi wajah individu China, didapat bahwa IRF6 memengaruhi variasi bentuk wajah normal, khususnya bibir dan hidung, dan hubungan ini lebih signifikan pada wanita. Pada populasi Asia Timur, gen IRF6 memberikan peran dalam mengatur morfologi nasolabial sagital. Kadar IRF6 meningkat pada epitel yang menutupi proses frontonasal, primordial rahang atas, dan lubang hidung. Ekspresi IRF6 juga terdeteksi di ektoderm tepi depan palatum yang sedang berkembang serta di dorsum rongga mulut primitif. Hal ini mungkin menjelaskan peran IRF6 dalam mengendalikan adhesi palatal dan kompetensi fusi di wilayah naso-maksila.²⁰ Gen IRF6 juga ditemukan pada otak, mata, jantung, hati, paru, plasenta, kulit, testis dan lidah.²¹

Gen IRF6 terdapat dalam jalur pensinyalan TGF- β yang berperan pada lelangit dalam proses menjaga diferensiasi epitel, adhesi lelangit dan fusi lelangit (degenerasi *midline epithelial seam*). Pada tahap adhesi lelangit TGF- β

mengaktifkan IRF6 melalui jalur pensinyalan *Smad dependent* (Smad2/4) dan jalur *non-Smad dependent* (MAPK-p38). IRF6 juga mengaktifasi Snai2 yang berperan sebagai regulator dari *Epitel Mesenchimal Transition* (EMT), turunnya ekspresi Snai2 menyebabkan penundaan fusi lelangit. IRF6 juga mengaktifasi *Matrix metalloproteinase-13* (MMP13) yang berperan dalam deskuamasi peridem. Selanjutnya IRF6 akan dalam menginduksi adhesi lelangit dan menghilangkan *Medial Epithelial Edge* (MEE) sehingga proses akan berlanjut ke fusi lelangit. Fusi lelangit baru akan terjadi apabila *Medial Epithelial Seam* (MES) terdegradasi. Degradasi MES terjadi bila ada migrasi, apoptosis dan transisi dari epitel mesenkim yang diinduksi TGF- β 3 dan IRF6.¹

Gen IRF6 juga mempengaruhi variasi kraniofasial lain seperti hidung dan bibir atas. Studi sebelumnya mengatakan terdapat hubungan polimorfisme IRF6 dengan morfologi wajah individu China, didapat bahwa IRF6 memengaruhi variasi bentuk wajah normal, khususnya bibir dan hidung, dan hubungan ini lebih signifikan pada wanita. Pada populasi Asia Timur, gen IRF6 memberikan peran dalam mengatur morfologi nasolabial sagital. Kadar IRF6 meningkat pada epitel yang menutupi proses frontonasal, primordial rahang atas, dan lubang hidung. Ekspresi IRF6 juga terdeteksi di ektoderm tepi depan palatum yang sedang berkembang serta di dorsum rongga mulut primitif. Hal ini mungkin menjelaskan peran IRF6 dalam mengendalikan adhesi palatal dan kompetensi fusi di wilayah naso-maksila.²⁰ Gen IRF6 juga ditemukan pada otak, mata, jantung, hati, paru, plasenta, kulit, testis dan lidah.²¹

Mempelajari mutasi yang timbul pada sel normal manusia sepanjang hidup individu memberikan wawasan tentang perkembangan, pemeliharaan dan perkembangan struktur jaringan normal. Mutasi dapat menjelaskan bagaimana masing-masing proses tersebut diubah oleh, atau berkontribusi terhadap, sebuah penyakit, proses penuaan atau sebuah keganasan. Tubuh manusia terdiri dari sel germinal dan sel somatik selama hidupnya. Mutasi somatik merupakan mutasi yang didapat oleh individu dengan konsekuensi terbatas pada individu yang mengalami mutasi tersebut. Faktor genetik, lingkungan dan gaya hidup dapat mempengaruhi pola mutasi somatik. Sebaliknya mutasi germinal dapat diturunkan terus menerus ke generasi berikutnya, menyebabkan evolusi dan diturunkan kepada keturunan.²²

Keterlibatan mutasi IRF6 dalam kejadian celah orofasial non-sindromik juga telah terdeteksi dalam studi kohort pada populasi di Eropa, dalam studi keterkaitan genom dan *Genome Wide Association Study* (GWAS).² Pada tahun 2018 pada beberapa populasi dengan menggunakan GWAS dan meta analisis menunjukkan bahwa IRF6 memberikan kontribusi terhadap risiko terjadinya celah orofasial non-sindromik.¹⁴ Varian umum IRF6 telah dikaitkan dengan kejadian celah orofasial non-sindromik di beberapa populasi. Didapatkan sebanyak 12% kasus celah orofasial non-sindromik disebabkan oleh mutasi IRF6 rs2235371.²³ Bezerra, *et al*²⁴ menyatakan beberapa polimorfisme genetik IRF6 telah dikaitkan dengan risiko celah orofasial non-sindromik pada banyak populasi, termasuk tipe CB/L non-sindromik. *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNP) IRF6 rs2235371 merupakan salah satu polimorfisme pertama yang secara signifikan terkait dengan CB/L non-sindromik pada populasi Asia. Penelitian lain dengan menggunakan GWAS menunjukkan bukti bahwa terdapat hubungan antara rs1044516 dengan CB/L non-sindromik pada populasi Asia, namun tidak pada populasi lain. Hubungan antara varian IRF6 dan kejadian CB/L non-sindromik telah banyak dieksplorasi secara luas di berbagai populasi dalam upaya skrining mutasi IRF6.

Polimorfisme rs2235371 merupakan mutasi *missense* di regio ekson 7 (regio koding), berupa substitusi basa G* menjadi basa A* (G*/A*), yang menyebabkan terjadinya transmisi berlebih (sebanyak 67%) akibat adanya substitusi asam amino valin atau GTC menjadi asam amino isoleusin atau ATC pada kodon 274 (V274I) yang diduga menyebabkan gangguan konformasi protein dan fungsi IRF6 dan berperan sebagai faktor risiko terjadinya celah orofasial non-sindromik pada beberapa populasi di dunia.¹⁹

Nasroen, *et al*²⁵ melakukan penelitian terkait efek dari perubahan polimorfisme IRF6 rs2235373 pada pasien celah orofasial non-sindromik. Penelitian ini menggunakan metode studi analisis laboratorium dengan mengisolasi DNA dari darah vena dan isolasi *Ribonucleic Acid* (RNA) dari epitel mukosa langit yang diswab sebanyak 15-20 kali. Adapun beberapa alasan mengapa penelitian ini menggunakan epitel mukosa langit untuk mengevaluasi perubahan mRNA. Pertama, karena IRF6 merupakan gen terpenting dalam proliferasi epitel. Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan pada model hewan, selama

masa janin IRF6 berperan penting dalam pembentukan periderm mulut. Kedua, karena IRF6 ini diekspresikan secara kuat di beberapa organ tubuh termasuk epitel mukosa mulut.

Keterlibatan polimorfisme gen IRF6 pada kejadian celah orofasial non-sindromik masih dalam perdebatan, karena adanya heterogenitas alel yang berbeda antara populasi/etnik dan perbedaan populasi/etnik ini juga berpengaruh pada kepekaan alel berbagai gen.¹⁹ Terdapat hubungan antara IRF6 dengan celah orofasial non-sindromik telah dieksplorasi secara luas di beberapa populasi dalam upaya menentukan apakah skrining mutasi IRF6 harus menjadi prosedur rutin, mengingat peran penting IRF6 dalam kejadian celah orofasial. Hal ini menyebabkan pemahaman mengenai hubungan ekspresi gen IRF6 dengan kejadian celah orofasial non-sindromik masih perlu dipahami lebih lanjut.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian singkat pada latar belakang diatas, dapat dirumuskan bahwa masalah pada penelitian ini adalah bagaimana ekspresi gen IRF6 pada kejadian celah orofasial non-sindromik dan individu non celah orofasial, serta gambaran polimorfisme gen IRF6 pada penderita celah orofasial non-sindromik

1.3 Hipotesis Penelitian

Terdapat perbedaan ekspresi gen IRF6 pada penderita celah orofasial non-sindromik dengan individu non celah orofasial dan terdapat polimorfisme gen IRF6 pada individu celah orofasial non-sindromik

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan menganalisis ekspresi gen dan polimorfisme gen IRF6 pada penderita celah orofasial non-sindromik dengan individu non celah orofasial

1.4.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui perbedaan ekspresi gen IRF6 pada penderita celah orofasial non-sindromik dengan individu non celah orofasial.

2. Mengetahui polimorfisme gen IRF6 pada penderita celah orofasial non- sindromik

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Bidang Akademik

Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan bahan kepustakaan dalam meningkatkan pengetahuan tentang peran gen IRF6 pada penderita celah orofasial non-sindromik.

1.5.2 Bidang Pelayanan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan mengenai ekspresi gen yang berhubungan dengan kejadian celah orofasial non-sindromik dan dapat menginspirasi dilakukannya terapi genetik dimasa depan.

1.5.3 Bidang Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi data dasar dan acuan bagi penelitian polimorfisme gen pada kejadian celah orofasial non-sindromik.

