

Studi Bioinformatika Varian Genetik yang Memengaruhi Tiroiditis Hashimoto dan Pola Sebarannya di Beberapa Benua

Siti Hajar Salamah, Nyoman Rudi, Iwan Santoso, Anisa Devi Karisma Wibowo, Dwiki Fitri,
Nanik Sulistiyani, Lalu Muhammad Irham
Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia

Abstrak

Penyakit tiroiditis Hashimoto (TH) adalah penyakit autoimun di mana sistem kekebalan tubuh menyerang kelenjar tiroid, menyebabkan peradangan dan kerusakan pada jaringan tiroid. Proses peradangan pada tiroiditis Hashimoto dipahami sebagai faktor risiko potensial untuk perkembangan kanker tiroid. Sampai saat ini, banyak kemajuan telah dibuat dalam pengetahuan dan pemahaman tentang TH. Namun demikian, mekanisme yang menyebabkan rusaknya toleransi sistem kekebalan tubuh, dengan akibat respon autoimun terhadap kelenjar tiroid dan timbulnya penyakit, masih belum jelas. Pada penelitian ini dengan pendekatan bioinformatika yang diakses menggunakan aplikasi GWAS, Haploreg V4.2, dan GTex Portal, diidentifikasi varian gen yang berperan dalam TH dan ekspresi gen tersebut dalam jaringan tubuh. Hasilnya diperoleh SNPs (*single nucleotide polymorphisms*) rs3184504 yang bersifat *missense* dengan variasi gen *SH2B3*. SNP rs3184504 terletak di kromosom 12, yang secara khusus terkait dengan gen *SH2B3*. SNP ini telah terlibat dalam berbagai kondisi kesehatan, terutama penyakit autoimun dan kerentanan terhadap kanker. Hasil ekspresi gen *SH2B3* dengan menggunakan GTEex Portal di 10 besar jaringan tubuh, yaitu pada jaringan limpa, limfoma yang ditransformasikan sel-EBV, paru-paru, adiposa-subkutan, adiposa-viseral (omentum), arteri-koroner, tiroid, jaringan payudara-mammae, dan arteri-aorta. Hasil ekspresi *SH2B3* di kelenjar tiroid lebih besar pada pria dan wanita. Selain itu, dengan menggunakan aplikasi Ensembl kami juga berhasil mengidentifikasi pola sebaran SNPs rs3184504 di beberapa benua, yaitu tertinggi di Asia Timur (100%), selanjutnya di Afrika (98%), Asia Selatan (93%), Amerika (75%), dan terendah di benua Eropa (54%).

Kata kunci: bioinformatika, frekuensi, populasi, tiroiditis Hashimoto

Bioinformatics Study of Genetic Variants Affecting Hashimoto's Thyroiditis and Their Distribution Patterns across Continents

Abstract

Hashimoto's thyroiditis (HT) is an autoimmune disease in which the immune system attacks the thyroid gland, causing inflammation and damage to the thyroid tissue. The inflammatory process in Hashimoto's thyroiditis is understood to be a potential risk factor for the development of thyroid cancer. To date, many advances have been made in the knowledge and understanding of HT. However, the mechanisms that lead to a breakdown in immune system tolerance, with a consequent autoimmune response to the thyroid gland and onset of disease, remain unclear. In this study, using a bioinformatics approach accessed using GWAS, Haploreg V4.2, and GTex Portal applications, gene variants involved in HT and their expression in body tissues were identified. The results obtained SNPs (*single nucleotide polymorphisms*) rs3184504 which is *missense* with *SH2B3* gene variation. SNP rs3184504 is located on chromosome 12, which is specifically linked to the *SH2B3* gene. This SNP has been implicated in various health conditions, especially autoimmune diseases and susceptibility to cancer. *SH2B3* gene expression results using GTEex Portal in 10 major body tissues, namely in the spleen, EBV cell-transformed lymphoma, lung, adipose-subcutaneous, adipose-visceral (omentum), coronary artery, thyroid, breast-mammary tissue, and artery-aorta. The results of *SH2B3* expression in the thyroid gland were greater in males and females. In addition, using Ensembl application, we also managed to identify the distribution pattern of SNPs rs3184504 in several continents, namely the highest in East Asia (100%), followed by in Africa (98%), South Asia (93%), America (75%), and the lowest in Europe (54%).

Keywords: bioinformatics, frequency, Hashimoto's thyroiditis, population

Korespondensi: Lalu Muhammad Irham, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia, *email:* lalu.irham@pharm.uad.ac.id

Pendahuluan

Tiroiditis Hashimoto (TH) pertama kali dijelaskan oleh Dr. Hakaru Hashimoto lebih dari seratus tahun yang lalu.¹ TH adalah penyakit autoimun di mana sistem kekebalan tubuh menyerang kelenjar tiroid, menyebabkan peradangan dan kerusakan pada jaringan tiroid. Peradangan kronis pada kelenjar tiroid dapat mengganggu fungsi tiroid, dan merupakan penyebab paling umum dari hipotiroidisme.² Diagnosis TH didasarkan pada ultrasonografi, kadar hormon tiroid, dan peningkatan autoantibodi terhadap peroksidase tiroid (TPOAb, terdapat pada 90% pasien TH) dan garis tiroglobulin (TgAb, positif pada 80% pasien TH).^{2,4}

TH sebagian besar disebutkan sebagai batasan untuk interpretasi tiroglobulin serum sebagai penanda tumor kanker tiroid ketika antibodi tiroglobulin hadir, seperti pada TH.^{1,4} Proses peradangan pada tiroiditis Hashimoto dipahami sebagai faktor risiko potensial untuk perkembangan kanker tiroid. Kanker tiroid merupakan kanker endokrin dengan insidensi dan prevalensi tertinggi di dunia.^{1,3} Faktor risiko potensial dari riwayat keluarga yang memiliki karsinoma tiroid, paparan radiasi terutama selama masa kanak-kanak dan remaja, terkena nuklir yang tidak disengaja, radiasi alami dari daerah vulkanik, iradiasi terapeutik atau diagnostik.² Selain faktor-faktor tersebut, faktor risiko TH lainnya berasal dari faktor lingkungan dan asupan iodium dalam suatu populasi.^{1,2}

Prevalensi TH bervariasi menurut wilayah dan tingkat sosioekonomi, berkisar antara 4,8–25,8% pada wanita dan 0,9–7,9% pada pria.⁵ Prevalensi TH adalah 7,5 (95% CI 5,7–9,6%), sedangkan pada kelompok berpendapatan rendah-menengah prevalensinya adalah 11,4 (95% CI 2,5–25,2%). Demikian pula, prevalensinya adalah 5,6 (95% CI 3,9–7,4%) pada kelompok berpendapatan menengah

ke atas, dan pada kelompok berpendapatan tinggi, prevalensinya adalah 8,4 (95% CI 5,6–11,8). Prevalensi Hashimoto bervariasi berdasarkan wilayah geografis: Afrika (14,2 [95% CI 2,5–32,9%]), Oseania (11,0% [95% CI 7,8–14,7%]), Amerika Selatan dan Eropa (8,0, 7,8% [95% CI 0,0–29,5%]) di Amerika Utara, dan 5,8 (95% CI 2,8–9,9%) di Asia.^{5,6}

Pengetahuan mengenai determinan genetik antibodi tiroid masih belum sepenuhnya dipahami, terutama karena mereka tidak dipelajari pada pasien dengan penyakit tiroid, seperti TH.⁶ Meskipun antibodi tiroid merupakan penanda kerusakan tiroid, namun dianggap bahwa hal tersebut bukan faktor penyebab dan kemungkinan besar tidak memiliki peran utama dalam patogenesis TH. Antibodi tiroid adalah penanda TH dan umumnya meningkat pada pasien TH, sehingga membuat sampel kami lebih kuat untuk mendeteksi varian genetik yang mendasarinya. Hingga saat ini, penelitian menggunakan *genome-wide association studies* (GWAS) yang berfokus secara eksklusif pada penelitian TH sangat terbatas. Penelitian menentukan varian gen melalui pendekatan bioinformatika pada beberapa penyakit telah banyak dilakukan, seperti pada *diabetic foot ulcer*,⁷ *perimplantitis*,⁸ COVID-19,⁹ dan *Stevens-Johnson syndrome*.¹⁰ Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut dan diperkuat oleh penggunaannya yang luas, maka tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui varian dan pola ekspresi gen pada berbagai jaringan tubuh yang bertanggungjawab terhadap munculnya penyakit TH melalui pendekatan bioinformatika. Penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui sebaran frekuensi populasi alel dari benua yang ada. Hasil penelitian diharapkan dapat digunakan untuk penelitian di masa depan terkait pengobatan klinis dari TH dengan pendekatan genetik.

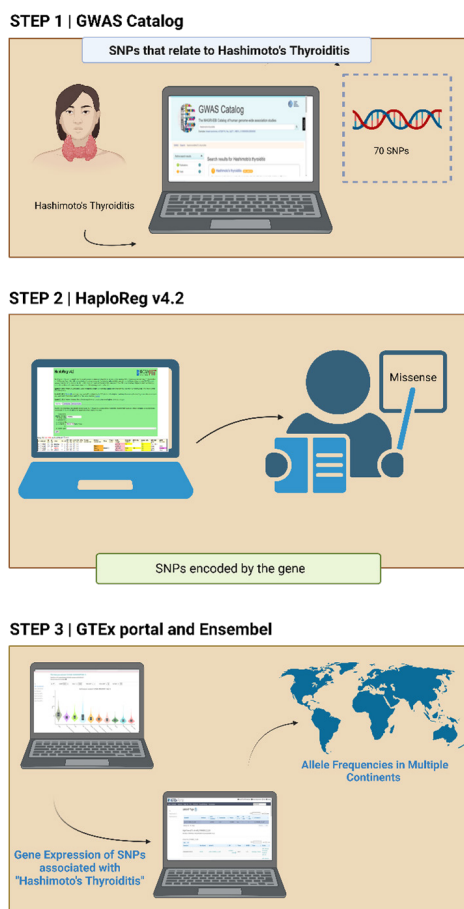
Metode

Penelitian ini menggunakan pendekatan berbasis bioinformatika untuk menentukan varian patogen yang berpotensi memicu TH (Gambar 1). Kata kunci yang digunakan adalah “*Hashimoto’s thyroiditis* (HT)” pada aplikasi GWAS Catalog (<https://www.ebi.ac.uk/gwas/> [diakses pada 5 Juli 2023]). Berdasarkan GWAS catalog, diperoleh data *single nucleotide polymorphisms* (SNPs) yang terkait dengan TH. SNPs yang berisiko terhadap TH diidentifikasi dengan kriteria signifikansi $p\text{-value} < 5 \times 10^{-8}$. Setiap varian SNPs yang memenuhi kriteria signifikansi dianalisis dengan menggunakan basis data HaploReg v4.2 (<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>) untuk

mengidentifikasi varian yang mengode gen tersebut. Selanjutnya, profil ekspresi gen, *expression quantitative trait locus* (eQTL) diperiksa menggunakan basis data portal GTEx (<https://www.gtexportal.org/home/> [diakses pada 5 Juli 2023]) yang mengompilasi ekspresi gen dalam berbagai jaringan manusia. Frekuensi alel di antara populasi Eropa, Afrika, Amerika, Asia Timur, Asia Tenggara diekstraksi dari Ensembl Genome Browser (https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/ [diakses pada 5 Juli 2023]).

Hasil

Berdasarkan hasil pencarian SNPs menggunakan GWAS Catalog untuk TH,



Gambar 1 Alur Kerja secara Bioinformatika untuk Mengidentifikasi Varian Gen Tiroiditis Hashimoto

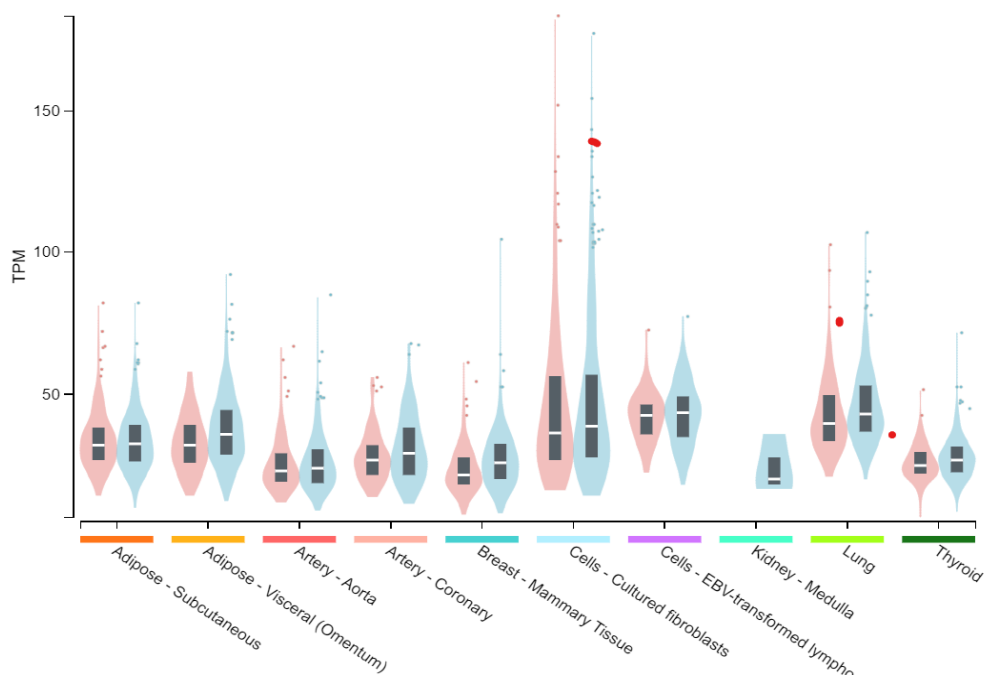
diperoleh data 70 SNPs, dan dari 70 SNPs yang diperoleh, terdapat 24 SNPs yang memenuhi kriteria identifikasi $p < 5 \times 10^{-8}$ (Tabel 1). Langkah selanjutnya, dengan menggunakan *database* HaploReg V4.2, SNPs yang memiliki varian *missense* diidentifikasi, dan diperoleh 1 SNPs, yaitu rs3184504 dengan varian gen *SH2B3* (*SH2B3 adaptor protein 3*) dapat dilihat pada Tabel 2. Ekspresi gen *SH2B3* dalam jaringan manusia, selanjutnya diteliti eQTL dengan menggunakan basis data portal GTEx (<http://www.gtexportal.org/home/>) yang berisi tingkat ekspresi gen dalam berbagai jaringan dapat dilihat Gambar 2.

Hasil penelitian, terdapat 10 jaringan tubuh yang merupakan 10 terbesar dari jaringan-jaringan yang terekspresi, yaitu pada limpa, limfoma yang ditransformasikan sel-EBV, paru-paru, fibroblas yang dikultur sel, adiposa-subkutan, adiposa-viseral (omentum), arteri-koroner, tiroid, jaringan payudara-*mammae*, dan arteri-aorta (Gambar 2). Pada penelitian ini, identifikasi ekspresi

gen *SH2B3* juga dilakukan berdasarkan jenis kelamin, di mana diketahui bahwa ekspresi tiroid pada pria lebih besar kejadiannya dibandingkan pada wanita (Gambar 2). Setelah melakukan identifikasi kandidat terkait ekspresi varian *SH2B3*, langkah selanjutnya adalah menentukan frekuensi alel di seluruh antar benua populasi (Tabel 2). Hasil identifikasi sebaran populasi dari SNPs rs3184504 di 5 benua menggunakan Ensembl Genome Browser (<https://www.ensembl.org/index.THml>) dapat dilihat pada Gambar 3.

Pembahasan

Informasi genom tidak hanya dapat dimanfaatkan untuk mengidentifikasi penyakit terkait varian gen, tetapi juga dapat diterjemahkan ke dalam pengetahuan yang lebih luas, sehingga dapat ditindaklanjuti untuk penyakit tersebut. Genetik atau riwayat keluarga merupakan salah satu faktor risiko munculnya penyakit TH. Penelitian ini dilakukan secara bioinformatika dengan



Gambar 2 Ekspresi Gen *SH2B3* Pria dan Wanita terkait dengan HT pada Jaringan Tubuh Menggunakan GTEx Portal (<https://www.gtexportal.org/home>)

Tabel 1 Varian dan Risk Allele Tiroiditis Hashimoto Menggunakan HaploReg V4.2
(<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>)

Varian dan risk allele	p-value	Gencode	dbSNP func. annot.
rs4409785	8 x 10 ⁻⁸	FAM76B	none
rs57348955	5 x 10 ⁻⁸	FUS	none
rs7537605	4 x 10 ⁻⁸	VAV3	intronic
rs13093110	4 x 10 ⁻⁸	LPP	intronic
rs377413889	3 x 10 ⁻⁸		-
rs2110451	3 x 10 ⁻⁸	CD69	none
rs10738556	3 x 10 ⁻⁸	SMARCA2	none
rs11611029	1 x 10 ⁻⁸	RAB5B	intronic
rs757024	1 x 10 ⁻⁸	HORMAD2	none
rs7212416	9 x 10 ⁻⁹	AATF	intronic
rs7754251	2 x 10 ⁻⁹	BACH2	intronic
rs11335233	1 x 10 ⁻⁹	LPP	intronic
rs9277768	4 x 10 ⁻¹⁰	HLA-DPB2	none
rs11889341	7 x 10 ⁻¹¹	STAT4	intronic
rs368679067	3 x 10 ⁻¹³	-	-
rs34636506	2 x 10 ⁻¹⁴	CTLA4	none
rs2476601	4 x 10 ⁻¹⁵	PTPN22	none
rs1993945	1 x 10 ⁻¹⁵	PDE8B	intronic
rs17020139	3 x 10 ⁻¹⁸	VAV3	intronic
rs2476601	1 x 10 ⁻²²	PTPN22	none
rs11571297	2 x 10 ⁻²³	CTLA4	none
rs3184504	1 x 10 ⁻²⁵	SH2B3	missense
rs7030280	6 x 10 ⁻³¹	XPA	none
rs9271365	1 x 10 ⁻³⁹	HLA-DQA1	none
rs2476601	3 x 10 ⁻⁴⁵	PTPN22	none

pengambilan data dari beberapa instrumen bioinformatika. Pada penggunaan GWAS catalog menggunakan ambang batas p-value <5x10⁻⁸ karena telah menjadi standar varian umum untuk membatasi temuan asosiasi positif palsu.¹¹ Varian *missense* yang memenuhi kriteria identifikasi menggunakan GWAS pada penelitian ini adalah gen *SH2B3*. Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang telah mengidentifikasi bahwa beberapa variasi genetik dalam gen *SH2B3* dikaitkan dengan peningkatan risiko terkena TH. Beberapa variasi genetik yang paling umum adalah SNPs rs3184504

dan rs12766212. Variasi genetik ini dapat memengaruhi ekspresi dan fungsi *SH2B3*, sehingga memengaruhi jalur sinyal dan regulasi imun dalam perkembangan TH. Ini adalah penyakit autoimun kronis pada kelenjar tiroid, dengan kejadian 8 kali lebih tinggi pada wanita, dan kejadian keseluruhan meningkat dalam beberapa dekade terakhir.³ Gen ini mengode anggota keluarga protein adaptor *SH2B3*, yang terlibat dalam berbagai aktivitas persinyalan oleh faktor pertumbuhan dan reseptor sitokin. Protein yang dikodekan adalah pengatur negatif utama dari persinyalan sitokin dan memainkan peran

Tabel 2. Analisis Frekuensi Alel Gen *SH2B3* Berdasarkan SNPnexus *Variant Annotation*
(<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>)

SNP ID	Posisi (hg38)	Simbol Gen	Lokasi	Alel		Frekuensi Alel (n)			
				Ref	Alt	AFR	AMR	ASN	EUR
rs4409785	Chr11:95578258	<i>FAM76B</i>	<i>none</i>	T	C	0,01	0,14	0,09	0,19
rs57348955	Chr16:31174561	<i>FUS</i>	<i>none</i>	G	A	0,04	0,42	0,77	0,41
rs7537605	Chr1:107800465	<i>VAV3</i>	<i>intronic</i>	G	A	0,35	0,34	0,33	0,35
rs13093110	Chr3:188407773	<i>LPP</i>	<i>intronic</i>	C	T	0,29	0,53	0,55	0,50
rs377413889	-	-	-	-	-				
rs2110451	Chr12:0778751	<i>CD69</i>	<i>none</i>	G	A	0,14	0,35	0,55	0,30
rs10738556	Chr9:2007878	<i>SMARCA2</i>	<i>none</i>	T	C	0,85	0,59	0,53	0,52
rs11611029	Chr 12:55991795	<i>RAB5B</i>	<i>intronic</i>	C	T	0,08	0,38	0,35	0,43
rs757024	Chr22:30075690	<i>HORMAD2</i>	<i>none</i>	G	C	0,72	0,56	0,31	0,45
rs7212416	Chr17:36975441	<i>AATF</i>	<i>intronic</i>	T	A	0,80	0,18	0,15	0,17
rs7754251	Chr 6:90279406	<i>BACH2</i>	<i>intronic</i>	G	C	0,34	0,53	0,41	0,55
rs11335233	Chr3:188407204	<i>LPP</i>	<i>intronic</i>	AC	A	0,07	0,35	0,41	0,43
rs9277768	Chr 6:33130792	<i>HLA-DPB2</i>	<i>none</i>	C	T	0,06	0,19	0,42	0,25
rs11889341	Chr2:191079016	<i>STAT4</i>	<i>intronic</i>	C	T	0,13	0,31	0,33	0,23
rs368679067	-	-	-	-	-				
rs34636506	Chr2:203827493	<i>CTLA4</i>	<i>none</i>	A	G	0,13	0,38	0,24	0,43
rs2476601	Chr1:113834946	<i>PTPN22</i>	<i>none</i>	A	G	1,00	0,96	1,00	0,90
rs1993945	Chr 5:77222370	<i>PDE8B</i>	<i>intronic</i>	A	T	0,86	0,56	0,83	0,42
rs17020139	Chr1:107826861	<i>VAV3</i>	<i>intronic</i>	G	A	0,03	0,17	0,3	0,03
rs2476601	Chr1:113834946	<i>PTPN22</i>	<i>none</i>	A	G	1,00	0,96	1,00	0,90
rs11571297	Chr2:202880280	<i>CTLA4</i>	<i>none</i>	T	C	0,35	0,44	0,27	0,49
rs3184504	Chr12:111446804	<i>SH2B3</i>	<i>missense</i>	T	C	0,97	0,70	0,99	0,53
rs7030280	Chr 9:97772985	<i>XP1</i>	<i>none</i>	C	T	0,89	0,70	0,91	0,65
rs9271365	Chr 6:32619017	<i>HLA-DQA1</i>	<i>none</i>	T	G	0,40	0,48	0,45	0,38
rs2476601	Chr 1:113834946	<i>PTPN22</i>	<i>none</i>	C	A	1,00	0,96	1,00	0,90

AFR: Afrika; AMR: Amerika; ASN: Asia; EUR: Eropa

penting dalam hematopoiesis. Mutasi pada gen ini telah dikaitkan dengan kerentanan terhadap penyakit *celiac* tipe 13 (penyakit autoimun berupa kelainan pencernaan karena terlalu banyak mengonsumsi gluten) 12 dan kerentanan terhadap diabetes melitus yang bergantung pada insulin. Varian transkrip yang disambung sebagai alternatif yang mengode isoform yang berbeda telah ditemukan untuk gen ini.

Gen *SH2B3* sebelumnya telah dikaitkan

dengan kerentanan terhadap beberapa penyakit autoimun. *SH2B3*, juga dikenal sebagai *lymphocyte-specific protein tyrosine kinase-binding protein* (LNK), adalah protein adaptor intraseluler yang terlibat dalam regulasi sinyal molekuler dalam sistem kekebalan tubuh. Meskipun peran *SH2B3* dalam TH belum sepenuhnya dipahami, beberapa penelitian telah menemukan kaitan antara variasi genetik dalam *SH2B3* dan risiko terkena penyakit autoimun,

termasuk TH. *SH2B3* terlibat dalam regulasi proliferasi, diferensiasi, dan aktivasi sel-sel imun, termasuk sel T dan sel B. Protein ini berinteraksi dengan berbagai protein sinyal, termasuk *protein kinase Janus* (JAK) dan *fosfatidilinositol 3-kinase* (PI3K), yang terlibat dalam transduksi sinyal intraseluler. *SH2B3* juga berperan dalam jalur sinyal yang melibatkan molekul kemokin, yang penting untuk migrasi dan aktivasi sel-sel imun. Gen *SH2B3* mengode anggota keluarga protein adaptor *SH2B3* yang terlibat dalam aktivitas persinyalan oleh faktor pertumbuhan dan reseptor sitokin. Protein *SH2B3* spesifik memiliki peran penting dalam hematopoiesis dan regulasi negatif persinyalan sitokin. Domain *SH2*-nya dapat ditemukan di banyak gen pengatur utama imunitas bawaan.¹³ Hilangnya *SH2B3* secara homozigot telah dikaitkan dengan beberapa fenotipe (keterbelakangan pertumbuhan, keterlambatan perkembangan ringan, hepatitis kronis) termasuk TH onset dini yang menyarankan peran *SH2B3* dalam deregulasi sistem kekebalan tubuh.¹⁴ Satu studi fungsional menunjukkan peran gen ini dalam perlindungan terhadap infeksi bakteri karena pembawa alel *SH2B3* dengan rs3184504 menunjukkan aktivasi yang lebih kuat dari jalur pengenalan *Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2* (NOD2).¹³

Basis data Genotype-Tissue Expression (GTEx) digunakan untuk mengidentifikasi genotipe dan ekspresi dalam jaringan manusia dan mamalia. GTEx menawarkan berbagai alat untuk mencari basis data terkait gen, varian, dan jaringan dengan kumpulan data genomik dan fenotip molekuler.¹⁵ Anotasi eQTL terdiri dari sebagian besar konsekuensi fungsional yang jelas dari variasi genetik dan basis data mengungkapkan bahwa *SH2B3* menunjukkan ekspresi pada jaringan-jaringan yang ada di tubuh manusia (Gambar 2). Sedangkan pada ekspresi jenis kelamin

menggunakan eQTL, ternyata pada pria lebih tinggi dari wanita. Hasil ini berbeda dengan beberapa penelitian sebelumnya yang mana pada wanita lebih besar risiko untuk terkena TH.³ Penelitian yang lain menyebutkan TH adalah gangguan autoimun yang mana lebih banyak dan sering terjadi mempengaruhi wanita 7–10 kali daripada pria, yang berkembang karena kerentanan genetik, pola inaktivasi kromosom X yang dipengaruhi oleh lingkungan, mikrobioma, sehingga menyebabkan ketidakseimbangan dalam mekanisme toleransi diri.¹⁶ Infiltrasi tiroid oleh limfosit, yang diperkuat oleh respons autoimun yang dimediasi antibodi melalui antibodi terhadap tiroid peroksidase (TPOAbs), menyebabkan kerusakan tirosit. Angka kejadian TH didiagnosis lebih sering terjadi lima sampai sepuluh kali pada wanita daripada pria dan kejadiannya meningkat seiring bertambahnya usia (puncak jumlah kasus adalah antara usia 45 dan 65 tahun); namun demikian kasus TH pada anak-anak pun dapat ditemukan.¹⁷ Hasil ini bisa menjadi landasan untuk penelitian selanjutnya mengenai penyebab perbedaan hasil antara laki-laki dan perempuan.

Menurut etiologi munculnya tiroiditis Hashimoto terutama disebabkan oleh terstimulasinya secara berlebihan sel T CD4⁺. Penelitian terbaru menunjukkan adanya peningkatan peran dari sel yang baru ditemukan seperti Th17 (CD4⁺IL-17⁺) atau sel pengatur T (CD4⁺CD25^{high}FoxP3⁺) dalam stimulasi gangguan autoimun.¹⁷ Selain itu, penelitian lain telah mengungkapkan bahwa gen *SH2B3* menunjukkan pleiotropi ekstrim, yaitu perubahan pada satu gen yang dapat menghasilkan dampak luas dan beragam pada berbagai aspek fisiologi atau fenotip organisme. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya selain gen *SH2B3* terkait hubungannya dengan hipotiroidisme, telah dikaitkan juga dengan berbagai penyakit autoimun, hematopoietik dan

penyakit/sifat lain, seperti diabetes tipe 1, penyakit *celiac*, hepatitis autoimun tipe 1, *rheumatoid arthritis*, *multiple sclerosis*, penyakit kulit autoimun vitiligo, sel darah merah, *kynurenine* metabolit darah manusia, jumlah trombosit, penyakit arteri koroner dan stroke iskemik, tekanan darah diastolik, dan mikroglobulin beta-2 plasma.¹⁸ Ekspresi gen *SH2B3* telah diamati pada berbagai jaringan manusia seperti pada jaringan fibrosa,¹⁹ pada jaringan paru²⁰ bahkan pada penelitian sebelumnya menyiratkan peran gen *SH2B3* dalam perkembangan kanker payudara²¹ dan kanker ovarium.²² Pada penelitian ini SNPs rs3184504 hanya menunjukkan ekspresi yang cukup kecil dibanding sebagian besar jaringan lain pada gen *SH2B3*, sehingga tidak bisa mengidentifikasi secara akurat gen yang bertanggungjawab pada kasus TH. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya, bahwa hingga saat ini patogenesis yang tepat dari TH masih belum jelas. TH adalah kelainan tiroid autoimun yang paling umum; saat ini, tidak ada cara yang efektif untuk mencegah dan mengobati TH.²³ Dengan ditemukannya gen yang bertanggung jawab pada TH, maka penelitian selanjutnya diharapkan bisa menentukan pengobatan secara genetik, sehingga pencegahan TH dan pengobatan TH bisa dilakukan sedini mungkin untuk mencegah terjadinya peradangan TH yang berkembang ke arah yang lebih serius, seperti kanker.^{6, 24}

Hasil identifikasi frekuensi sebaran alel menggunakan Ensembl Genome Browser tertinggi ditemukan di wilayah Asia Timur (100%), selanjutnya di Afrika (98%), Asia Selatan (93%), Amerika (75%), dan terendah di benua Eropa (54%). Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya di mana prevalensi penyakit TH di tiap wilayah secara geografis (kondisi alam, lingkungan tempat tinggal) bervariasi.⁶ Kondisi ekonomi dari tiap wilayah yang berbeda juga diperkirakan berpengaruh pada frekuensi sebaran TH di

suatu wilayah.⁶

Penelitian ini memiliki keterbatasan, yaitu hanya satu aplikasi yang digunakan untuk mencari data SNPs dan data sebaran terkait penyakit TH. Hasil SNPs rs3184504 yang diperoleh pada penelitian lain ternyata menunjukkan pengaruh pada penyakit yang berbeda. Hal ini menunjukkan sensitifitas dan spesifitas dengan mencari varian genetik menggunakan GWAS perlu divalidasi dengan metode lain. Penelitian berikutnya bisa menggunakan aplikasi lain atau metode lain yang dapat memvalidasi varian gen dan sebarannya terkait penyakit TH.

Simpulan

Penelitian melalui pendekatan bioinformatika terkait TH dilakukan menggunakan aplikasi GWAS, HaploReg V4.2, GTex Portal dan Ensembl. Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh varian gen *SH2B3* dari SNPs rs3184504 yang bersifat *missense*. Di mana ekspresi gen *SH2B3* melalui Gtex Portal terbesar ada pada 10 jaringan tubuh manusia, yaitu pada limpa, limfoma yang ditransformasikan sel-EBV, paru-paru, fibroblas yang dikultur sel, adiposa-subkutan, adiposa-viseral (omentum) arteri-koroner, tiroid, jaringan payudara-*mammæ*, dan arteri-aorta. Hasil ekspresi gen *SH2B3* di jaringan tiroid pada penelitian ini diperoleh angka kejadian pada pria lebih besar daripada wanita. Peneliti lain dapat melakukan analisa pada penelitian-penelitian yang ada untuk mengetahui penyebab adanya perbedaan angka kejadian TH antara pria dan wanita. Sebaran populasi dari SNPs rs3184504 menggunakan aplikasi Ensembl tertinggi di Asia Timur (100%) dan terendah di Eropa (54%). Semakin tinggi nilai frekuensi sebaran di suatu wilayah, maka semakin rentan penyakit TH di wilayah tersebut berkembang. Hasil penelitian menunjukkan

Asia Selatan perlu melakukan tindakan preventif untuk mencegah tingginya kasus TH di wilayah tersebut. Saran kami untuk penelitian selanjutnya yaitu menemukan jenis obat yang bekerja pada gen *SH2B3* terkait TH sehingga dapat dikembangkan penggunaan secara klinis.

Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan banyak terima kasih kepada para pengampu mata kuliah bioinformatika Pascasarjana Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan yang memfasilitasi jalannya penelitian hingga selesai.

Pendanaan

Penelitian ini tidak didanai oleh hibah manapun.

Konflik Kepentingan

Para penulis menyatakan tidak ada potensi konflik kepentingan sehubungan dengan penelitian, kepengarangan, dan/atau publikasi artikel ini.

Daftar Pustaka

1. Weetman AP. The Immunopathogenesis of Chronic Autoimmune Thyroiditis One Century after Hashimoto. *Eur Thyroid J*. 2012;243–50.
2. Tagami T, Tamanaha T, Shimazu S, Honda K, Nanba K, Nomura H, et al. Tagami2010. 2010;57(3):253–8.
3. Zaletel K, Gaberscek S. Hashimotos Thyroiditis: From Genes to the Disease. *Curr Genomics*. 2011;12(8):576–88.
4. Tam AA, Kaya C, Üçler R, Dirikoç A, Ersoy R, Çakır B. Correlation of normal thyroid ultrasonography with thyroid tests. *Quant Imaging Med Surg*. 2015;5(4):569–56974.
5. Mikulska AA, Karaźniewicz-Łada M, Filipowicz D, Ruchała M, Głowska FK. Metabolic Characteristics of Hashimoto's Thyroiditis Patients and the Role of Microelements and Diet in the Disease Management—An Overview. *Int J Mol Sci*. 2022;23(12).
6. Brčić L, Barić A, Gračan S, Torlak V, Brekalo M, Škrabić V, et al. Genome-wide association analysis suggests novel loci underlying thyroid antibodies in Hashimoto's thyroiditis. *Sci Rep*. 2019;9(1):1–10.
7. Qian L, Xia Z, Zhang M, Han Q, Hu D, Qi S, et al. Integrated Bioinformatics-Based Identification of Potential Diagnostic Biomarkers Associated with Diabetic Foot Ulcer Development. *J Diabetes Res*. 2021;2021:1–7.
8. Zhang X, Wang Z, Hu L, Shen X, Liu C. Identification of Potential Genetic Biomarkers and Target Genes of Peri-Implantitis Using Bioinformatics Tools. *Biomed Res Int*. 2021;2021.
9. Rezadhini M, Irham LM, Puspitaningrum AN, AfiefAR, Adikusuma W, Perwitasari DA. Utilizing Genomic Database for Identifying Genomic Variation for SARS-CoV-2 Receptors. *Med Sains J Ilm Kefarmasian*. 2023;8(2):667–78.
10. Ma'ruf M, Fadli JC, Mahendra MR, Irham LM, Sulistyani N, Adikusuma W, et al. A bioinformatic approach to identify pathogenic variants for Stevens-Johnson syndrome. *Genomics Inform*. 2023;21(2):e26.
11. Chen Z, Boehnke M, Wen X, Mukherjee B. Revisiting the genome-wide significance threshold for common variant GWAS. *G3 Genes, Genomes, Genet*. 2021;11(2).
12. Ludvigsson JF, Murray JA. Epidemiology of Celiac Disease. *Gastroenterol Clin North Am*. 2019;48(1):1–18.

13. Zhernakova A, Elbers CC, Ferwerda B, Romanos J, Trynka G, Dubois PC, et al. Evolutionary and Functional Analysis of Celiac Risk Loci Reveals SH2B3 as a Protective Factor against Bacterial Infection. *Am J Hum Genet* [Internet]. 2010;86(6):970–7.
14. Perez-Garcia A, Ambesi-Impiombato A, Hadler M, Rigo I, LeDuc CA, Kelly K, et al. Genetic loss of SH2B3 in acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2013;122(14):2425–32.
15. Stanfill AG, Cao X. Enhancing Research Through the Use of the Genotype-Tissue Expression (GTEx) Database. *Biol Res Nurs*. 2021;23(3):533–40.
16. Klubo-Gwiedzinska J, Wartofsky L. Hashimoto thyroiditis: an evidence-based guide to etiology, diagnosis and treatment. *Polish Arch Intern Med*. 2022;132(3):1–10.
17. Pyzik A, Grywalska E, Matyjaszek-Matuszek B, Roliński J. Immune disorders in Hashimoto's thyroiditis: What do we know so far? *J Immunol Res*. 2015;2015.
18. Auburger G. 12q24 locus association with type 1 diabetes: SH2B3 or ATXN2 ? . *World J Diabetes*. 2014;5(3):316.
19. Wang Y, Jin BJ, Chen Q, Yan BJ, Liu ZL. MicroRNA-29b upregulation improves myocardial fibrosis and cardiac function in myocardial infarction rats through targeting SH2B3. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2019;23(22):10115–22.
20. Wang LN, Zhang ZT, Wang L, Wei HX, Zhang T, Zhang LM, et al. TGF- β 1/SH2B3 axis regulates anoikis resistance and EMT of lung cancer cells by modulating JAK2/STAT3 and SHP2/Grb2 signaling pathways. *Cell Death Dis*. 2022;13(5):1–12.
21. Lv J, Yu W, Zhang Y, Cao X, Han L, Hu H, et al. LNK promotes the growth and metastasis of triple negative breast cancer via activating JAK/STAT3 and ERK1/2 pathway. *Cancer Cell Int*. 2020;20(1):1–13.
22. Ding LW, Sun QY, Lin DC, Chien W, Hattori N, Dong XM, et al. LNK (SH2B3): Paradoxical effects in ovarian cancer. *Oncogene*. 2015;34(11):1463–74.
23. Gan XX, Zhong LK, Shen F, Feng JH, Li YY, Li SJ, et al. Network Pharmacology to Explore the Molecular Mechanisms of *Prunella vulgaris* for Treating Hashimoto's Thyroiditis. *Front Pharmacol*. 2021;12:1–10.
24. Hu X, Chen Y, Shen Y, Tian R, Sheng Y, Que H. Global prevalence and epidemiological trends of Hashimoto's thyroiditis in adults: A systematic review and meta-analysis. *Front Public Heal*. 2022;10.
25. Hu X, Wang X, Liang Y, Chen X, Zhou S, Fei W, et al. Cancer Risk in Hashimoto's Thyroiditis: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022;13(July):1–10.