



Buku Ajar  
**HEMATOLOGI**



Andika Aliviameita; Puspitasari

ISBN 978-623-7576-00-0



**Buku Ajar Mata Kuliah  
Hematologi**

**Oleh  
Andika Alivameita; Puspitasari**



**Diterbitkan oleh  
UMSIDA PRESS**

**Tahun 2019**

**Buku Ajar  
Hematologi**

**Penulis :**

**Andika Aliviameita; Puspitasari.**

**ISBN :**

978-623-7578-00-0

**Editor :**

Septi Budi Sartika, M.Pd

M. Tanzil Multazam , S.H., M.Kn.

**Copy Editor :**

Fika Megawati, S.Pd., M.Pd.

**Design Sampul dan Tata Letak :**

Mochamad Nashrullah, S.Pd

**Penerbit :**

UMSIDA Press

**Redaksi :**

Universitas Muhammadiyah Sidoarjo

Jl. Mojopahit No 666B Sidoarjo, Jawa Timur

**Cetakan pertama, Agustus 2019**

© Hak cipta dilindungi undang-undang

Dilarang memperbanyak karya tulis ini dengan suatu apapun tanpa ijin tertulis dari penerbit.

## BAB 1

### PEMBENTUKAN SEL DARAH (HEMATOPOIESIS)

Hematologi merupakan studi tentang darah, baik dalam keadaan normal maupun patologis. Darah merupakan cairan tubuh yang berperan penting dalam membantu diagnosis berbagai penyakit. Darah adalah jaringan berbentuk cair yang terdiri dari dua bagian, yaitu plasma darah dan korpuskuli. Plasma darah merupakan bagian cairan, sedangkan korpuskuli yaitu sel-sel darah. Plasma darah berwarna kekuningan yang 90% mengandung air dan sisanya merupakan zat-zat terlarut. Plasma berperan mengatur keseimbangan asam-basa darah agar terhindar dari kerusakan jaringan.

Pada tubuh manusia sehat atau orang dewasa volume darah mencapai 7 % dari berat badan. Terdapat tiga jenis sel darah, yaitu sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit), dan keping darah (trombosit) atau *platelet*. Warna darah dipengaruhi oleh kadar oksigen ( $O_2$ ) dan karbondioksida ( $CO_2$ ) didalamnya. Darah arteri berwarna merah muda karena banyak  $O_2$  yang berikatan dengan hemoglobin. Sedangkan darah vena berwarna merah tua/ gelap karena kekurangan  $O_2$ . Eritrosit berfungsi dalam mengantarkan oksigen dan zat makanan yang diperlukan tubuh serta menyingkirkan  $CO_2$  beserta hasil buangan lainnya. Leukosit berperan untuk melindungi tubuh terhadap benda asing. Trombosit berperan dalam pembekuan darah. Proses pembentukan sel darah meliputi pembentukan sel darah secara umum (hematopoiesis), stadium awal pembentukan eritrosit (eritropoiesis), pembentukan leukosit (leukopoiesis) dan trombosit (trombopoiesis).

#### 1.1 Hematopoiesis

Hematopoiesis dapat didefinisikan sebagai produksi, perkembangan, diferensiasi, dan pematangan semua sel darah dalam tubuh. Hematopoiesis merupakan pembentukan komponen seluler darah yang terjadi selama perkembangan embrionik hingga dewasa untuk memproduksi dan mengatur sistem darah dalam tubuh. Mempelajari hematopoiesis dapat membantu memahami proses gangguan darah dan kanker dengan lebih baik. Tempat terjadinya hematopoiesis ada pada Tabel 1.1. Hematopoiesis terjadi di kantung kuning telur (*yolk sac*) beberapa minggu pertama gestasi. Hati dan limpa adalah organ utama yang berperan dalam memproduksi sel darah sejak janin berusia 6 minggu hingga 7 bulan sampai dengan 2 minggu setelah kelahiran. Pada anak-anak hingga dewasa proses hematopoiesis terjadi di sumsum tulang. Sel-sel yang sedang berkembang terletak di luar sinus sumsum tulang, dan sel yang matang dilepaskan ke dalam rongga sinus, mikrosirkulasi sumsum tulang, sehingga masuk ke dalam sirkulasi umum. Pada saat bayi seluruh sumsum tulang bersifat hematopoietik tetapi setelah anak-anak terjadi penggantian sumsum tulang disepanjang tulang panjang oleh lemak yang sifatnya progresif, sehingga pada saat dewasa sumsum tulang hematopoietik terbatas pada tulang rangka sentral serta ujung proksimal tulang femur dan humerus. Proses hematopoiesis ada pada Gambar 1.1.

**Tabel 1.1** Tempat Terjadinya Hematopoiesis

Janin	0-2 bulan (kantung kuning telur) 2-7 bulan (hati, limpa) 5-9 bulan (sumsum tulang)
Bayi	Sumsum tulang (pada semua tulang)
Dewasa	Vertebra, tulang iga, sternum, tulang tengkorak, sakrum dan pelvis, ujung proksimal femur.

(Hoffbrand *et al.*, 2005)

##### 1.1.1 Sel Induk Hematopoietik dan Progenitor

Semua sel darah matang dalam tubuh dihasilkan dari sejumlah kecil sel induk hematopoietik atau *Hematopoietic Stem Cell* (HSC) dan progenitor. Hematopoiesis berawal dari satu sel induk pluripoten

bersama, kemudian menyebabkan adanya berbagai jalur sel yang terpisah. Diferensiasi sel terjadi dari sel induk menjadi jalur eritroid, granulositik, dan jalur lain yang terbatas dalam potensi perkembangannya melalui *committed hematopoietic progenitor*. Sel induk hematopoietik mempunyai kemampuan untuk memperbarui diri dan menghasilkan setiap *lineage* yang ditemukan dalam sistem hematopoietik termasuk sel darah merah, trombosit, dan berbagai sel limfoid dan myeloid. Beberapa sel limfoid yang paling penting termasuk sel *Natural Killer* (NK), sel T, dan sel B, sedangkan sel myeloid yang penting termasuk granulosit, monosit, makrofag, sel mikroglial, sel dendritik. Masing-masing jenis sel ini dapat dihasilkan dari satu sel induk, dan setiap sel induk mempunyai kapasitas yang sangat besar untuk menghasilkan sejumlah sel dalam beberapa tahun.

Proses hematopoiesis melibatkan interaksi kompleks antara proses genetik intrinsik dari sel darah dan lingkungannya. Interaksi ini menentukan apakah sel induk, progenitor, dan sel darah matur tetap diam, berproliferasi, berdiferensiasi, memperbaharui diri, atau mengalami apoptosis. Semua mekanisme genetik dan lingkungan yang mengatur produksi darah beroperasi dengan mempengaruhi keseimbangan relatif proses ini. Pada kondisi normal, mayoritas sel induk dan banyak progenitor berada dalam fase diam (G0) dari siklus sel. Namun, banyak progenitor matur berproliferasi dan menghasilkan keturunan matur. Pada keadaan normal, hal ini diimbangi dengan tingkat apoptosis pada progenitor dan sel matur. Jika terjadi stres seperti pendarahan atau infeksi, beberapa proses terjadi.

Kumpulan sel yang tersimpan di sumsum tulang atau menempel pada endotelium dengan cepat dilepaskan ke sirkulasi untuk melokalisasi ke daerah yang cedera. Progenitor dan sel matur menjalani apoptosis lebih sedikit, progenitor yang diam dan sel induk dirangsang oleh berbagai faktor pertumbuhan untuk berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi leukosit, eritrosit, dan trombosit yang matur. Pada saat terjadi perdarahan, infeksi, atau stres lain yang mendasarinya berhenti dan permintaan sel darah kembali normal, proses anti apoptotik dan proliferasi akan menurun, sel-sel darah didistribusikan kembali ke tempat penyimpanan, dan proses hematopoiesis kembali ke proses awal. Proses ini terjadi berulang-ulang kali selama masa hidup seseorang, dan akan terlihat dalam bentuk berlebihan setelah kemoterapi atau transplantasi sumsum tulang.

### 1.1.2 Plastisitas Sel Induk

Sel induk merupakan sel terspesialisasi yang memiliki dua sifat menentukan, yaitu: kemampuan untuk membedakan (berkembang menjadi sel lain) dan kemampuan untuk diri-regenerasi. *Stem cell* atau sel punca adalah sel induk yang mampu berdiferensiasi atau dapat merubah diri menjadi berbagai sel, seperti sel otot, sel endokrin, epitel dan lain-lain. Faktor-faktor pertumbuhan hemopoietik ada pada Tabel 1.2. Berdasarkan kemampuan berdiferensiasinya, ada 4 jenis *stem sel*, antara lain:

- Totipoten, yaitu sel yang dapat berdiferensiasi menjadi semua jenis sel. Contoh selnya: zigot (sel telur yang sudah dibuahi)
- Pluripoten, yaitu sel yang mampu berdiferensiasi menjadi 3 lapisan germinal (ektoderm, mesoderm, dan endoderm) namun tidak bisa menjadi jaringan ekstraembrionik (plasenta dan tali pusat). Contoh selnya: embryonic stem cells.
- Multipoten, yaitu *stem cell* dewasa yang terdapat dalam jaringan matur, seperti otak, jantung, jantung, dan sumsum tulang yang mampu berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel dalam golongan yang sama. Contoh selnya: stem cell neural pada otak yang dapat menjadi berbagai jenis sel saraf (astrofit, oligodendrosit, dan neuron).
- Unipoten, yaitu sel yang hanya mampu menghasilkan satu jenis sel dan dapat meregenerasi atau memperbarui diri (*self regenerate/ self renew*).

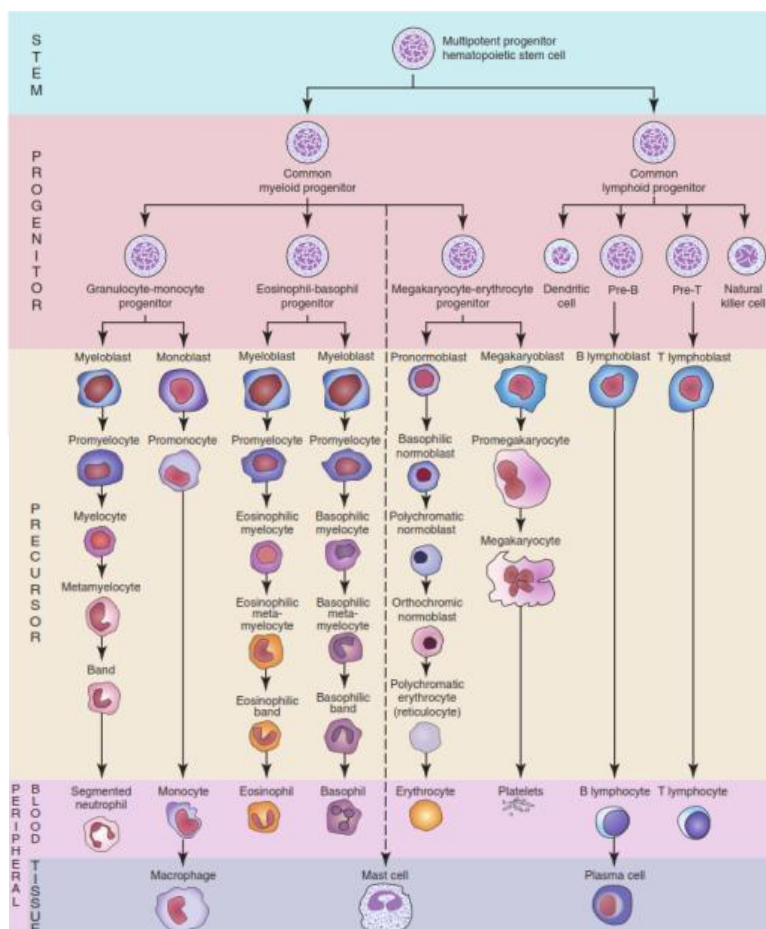
**Tabel 1.2** Faktor Pertumbuhan Hemopoietik

Bekerja pada sel stromal	IL-1 (merangsang produksi faktor pertumbuhan lain)
--------------------------	--

	TNF ( <i>Tumor Necrosis Factor</i> )
Bekerja pada sel pluripotensial	Faktor <i>stem cell</i>
Bekerja pada sel multipotensial dini	IL-3 (Interleukin-3) IL-4 (Interleukin-4) IL-6 (Interleukin-6) GM-CSF (Faktor perangsang-koloni granulosit-makrofag)
Bekerja pada sel progenitor yang sudah terarah	G-CSF (Faktor perangsang-koloni granulosit) M-CSF (Faktor perangsang-koloni makrofag) IL-5 (CSF eosinofil) Eritropoietin Trombopoietin

(Mehta & Hoffbrand, 2008)

Sel induk dewasa pada berbagai organ bersifat pluripoten karena dapat menghasilkan berbagai jenis jaringan. Salah satu sel induk dewasa ialah sel induk hematopoietik (*hematopoietic stem cells*), yaitu sel induk pembentuk darah yang mampu membentuk eritrosit, leukosit, dan trombosit atau *platelet*. Sumber sel induk hematopoietik adalah sumsum tulang, darah tepi, dan darah tali pusar. Sumsum tulang mengandung sel induk hemopoietik (yang



**Gambar 1.1** Tahapan Hematopoiesis (Rodak & Carr, 2017)

akan menurunkan jaringan limfoid dan myeloid) serta sel induk mesenkim (*mesenchymal stem cells/MS*C). MSC dapat ditemukan pada stroma sumsum tulang belakang, periosteum, lemak dan kulit. Sel induk mesenkim bersifat multipoten yang dapat berdiferensiasi menjadi sel-sel otot, tulang, ligamen, tendon, dan

lemak. Pembentukan sel induk hematopoietik terjadi pada tahap awal embryogenesis, yaitu dari mesoderm dan disimpan pada tempat spesifik di dalam embrio.

### 1.1.3 Apoptosis

Homeostasis pada organisme multiseluler dikontrol oleh proliferasi, diferensiasi, dan kematian sel. Kematian sel dapat berupa nekrosis dan apoptosis. Apoptosis adalah kematian sel terprogram (*programmed cell death*) yang bertujuan untuk mempertahankan kestabilan populasi sel. Kegagalan pengaturan apoptosis dapat menyebabkan sel membelah tanpa terkendali, yang disebut sebagai kanker. Apoptosis dapat distimulasi oleh kondisi fisiologis dan patologis serta memegang peranan penting dalam menjaga homeostasis normal dan patogenesis beberapa penyakit.

Penyebab fisiologis apoptosis, antara lain: perkembangan embrionik ketika pembentukan jaringan, involusi fisiologis pada saat luruhnya endometrium ketika menstruasi, dan hancurnya sel epitel normal yang diiringi proliferasi sel kulit baru. Sedangkan penyebab patologis apoptosis, yaitu virus (hepatitis B, hepatitis C), obat anti kanker, radiasi, matinya sel CD4 pada *Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS)*, hipoksia, degenerasi sel (Alzheimer, Parkinson), dan infark miokardium.

Mekanisme apoptosis terdiri dari empat tahap, diantaranya:

- (1) Sinyal kematian (penginduksi apoptosis) yang bersifat fisiologis (hormon, sitokin), biologis (bakteri, virus, parasit), kimia (obat-obatan), fisik (toksin, radiasi).
  - (2) Integrasi/ pengaturan (transduksi sinyal, induksi gen apoptosis yang berhubungan).
  - (3) Pelaksanaan apoptosis, yaitu terjadinya perubahan morfologi dan kimia (degradasi DNA, pembongkaran sel, pembentukan badan apoptotik).
  - (4) Fagositosis/ eliminasi oleh makrofag, dendritik atau sel yang berdekatan dengan sel apoptosis.
- Peristiwa apoptosis ditandai dengan pengerutan sel, kondensasi kromatin inti, fragmentasi inti, dan pembelahan DNA pada lokasi internukleosom.

## 1.2 Eritrosit

Morfologi normal eritrosit bervariasi tergantung pada spesies. Eritrosit mamalia tidak berinti sedangkan eritrosit bangsa *Camellidae*, reptil, dan aves mempunyai inti. Eritrosit berbentuk oval dan bikonkaf berfungsi sebagai pertukaran oksigen. Jumlah eritrosit pada orang dewasa normal, yaitu pada pria 5,2 juta sel/ $\mu$ l dan pada wanita 4,7 juta sel/ $\mu$ l. Eritrosit berfungsi sebagai pengatur utama metabolisme dan kehidupan dengan menyalurkan oksigen ke sel-sel dan jaringan-jaringan di seluruh tubuh untuk perkembangan, fisiologis, dan regeneratif. Membran permeabel yang menutupi komponen eritrosit terbuat dari lipid, protein, dan karbohidrat. Perubahan komposisi lipid membran menghasilkan bentuk eritrosit yang abnormal. Membran protein yang abnormal juga dapat menyebabkan bentuk eritrosit abnormal. Jumlah eritrosit sering digunakan untuk menegakkan diagnosa jenis anemia berdasarkan penyebabnya.

Retikulosit merupakan eritrosit muda tidak berinti yang mempertahankan RNA (dapat diwarnai dengan pewarnaan supravital). Jumlah retikulosit dapat meningkat karena adanya pendarahan akut, pengobatan defisiensi hematinik (zat besi, asam folat, vitamin B<sub>12</sub>), serta anemia hemolitik. Pada sumsum tulang ada sekitar 10%-15% eritroblas yang sedang berkembang akan mati tanpa menghasilkan eritrosit matur. Proses eritropoiesis yang tidak efektif ini meningkat pada kasus talasemia mayor, mielofibrosis, dan anemia megaloblastik.

### 1.2.1 Eritropoiesis

Tubuh manusia memproduksi kira-kira  $10^{12}$  eritrosit baru setiap hari melalui proses eritropoiesis. Eritropoiesis merupakan proses pembentukan sel darah merah. Mekanisme eritropoiesis membutuhkan tiga faktor pendukung, yaitu: 1) *stem cells hematopoietic*, 2) sitokin spesifik, *growth factor* dan hormonal regulator, dan 3) hematopoietik yang mempengaruhi *micro environment*, yaitu stroma pendukung dan interaksi sel dengan sel yang diikuti proliferasi dan diferensiasi hematopoietik *stem cell* dan mempengaruhi

progenitor eritroid yang akhirnya menghasilkan eritrosit matur. Proliferasi dan maturasi diatur oleh sitokin, termasuk eritropoietin. Produksi eritrosit merupakan proses dinamis yang berasal dari sel induk pluripoten, dimana strukturnya dapat menghasilkan banyak jaringan, termasuk sel kulit, tulang, dan saraf. Sel ini berasal dari sel induk pluripoten, berada di bawah pengaruh sitokin yang mengatur diferensiasi dan pematangan sel ke *committed pathway*. Sel-sel eritrosit berada di bawah kontrol hormon *erythropoietin* (EPO). Hormon EPO diproduksi oleh ginjal dan berfungsi untuk regenerasi eritrosit. EPO membuat jalur melalui sirkulasi dan mengunci ke reseptor pada pronormoblast, prekursor eritrosit termuda, menstimulasi produksi 16 eritrosit matur dari setiap sel prekursor pronormoblast (sel induk pluripoten).

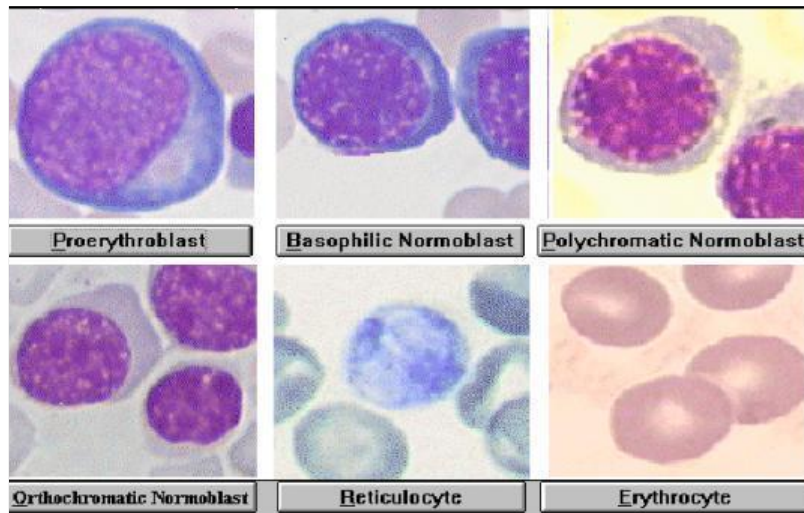
Eritrosit matur adalah salah satu dari beberapa struktur seluler di tubuh manusia yang dimulai sebagai sel berinti dan menjadi sel tidak berinti. Perkembangan ini terjadi di sumsum tulang selama 5 hari karena setiap sel prekursor melewati tiga divisi berturut-turut, menghasilkan sel darah merah yang lebih kecil dan lebih padat. Beberapa perubahan eritrosit, yaitu: ukuran sel mengecil, rasio nukleus : sitoplasma (N:S) berkurang, inti kromatin menjadi lebih padat, dan warna sitoplasma diubah ketika hemoglobinisasi menjadi lebih jelas. Di sumsum tulang, eritrosit pada berbagai tahap pematangan tampaknya mengelompok di area spesifik, yaitu pulau eritroblastik, mudah diidentifikasi pada aspirasi sumsum tulang dengan petunjuk morfologis eritropoiesis, dimana inti sangat bulat dikombinasikan dengan sitoplasma basofilik. Eritropoiesis pada dewasa terjadi di sumsum tulang yang terletak di sternum dan krista iliaka, sedangkan eritropoiesis pada anak-anak terjadi pada tulang panjang dan sternum.

Terdapat 6 tahapan dalam proses maturasi eritrosit, yaitu: pronormoblast, normoblast basofilik, polikromatofilik normoblast, ortokromik normoblast, retikulosit, dan eritrosit matur. Morfologi eritrosit matur secara umum antara lain: Ketika eritrosit berinti maka nukleus berbentuk bulat, tidak ada granula di sitoplasma eritrosit, sitoplasma pada sel muda bersifat basofilik dan menjadi berwarna lebih ungu karena sintesis dari hemoglobin, ukuran sel matur menjadi lebih kecil, bahan kromatin inti menjadi lebih padat sebagai persiapan untuk ekstrusi dari inti sel, rasio N:S berkurang menjadi lebih padat dan lebih kecil pada seluruh eritrosit. Karakteristik perkembangan eritrosit ada pada Gambar 1.2.

Eritrosit matur di desain sebagai alat untuk menyalurkan hemoglobin ke seluruh tubuh. Eritrosit berjalan lebih dari 300 mil pada sirkulasi perifer, masuk ke dalam sistem peredaran darah. Faktor seluler dan lingkungan berkontribusi terhadap kelangsungan hidup eritrosit. Siklus hidup eritrosit dapat bertahan selama 120 hari jika berada pada kondisi: membran eritrosit bersifat *deformable*, struktur dan fungsi hemoglobin adekuat, keseimbangan osmotik dan permeabilitas eritrosit terjaga. Eritrosit matur merupakan struktur tidak berinti tanpa kapasitas untuk mensintesis protein namun dapat melakukan *limited* metabolisme sehingga mampu untuk bertahan hidup selama 120 hari. Kemudian sel menjadi tua dan dihancurkan dalam RES terutama dalam limpa dan hati. Globin dari hemoglobin dipecah menjadi asam amino yang digunakan sebagai protein dalam berbagai jaringan. Zat besi dalam haem dikeluarkan untuk digunakan dalam pembentukan eritrosit lagi, sisanya diubah menjadi bilirubin (pigmen kuning) dan biliverdin (kehijauan).

Membran sel yang utuh dan berfungsi penuh ialah unsur penting eritrosit dalam mempertahankan hidupnya. Membran eritrosit merupakan struktur trilaminar dan tiga dimensi yang mengandung glikolipid dan glikoprotein pada bagian terluar lapisan langsung di bawah permukaan membran eritrosit. Kolesterol dan fosfolipid membentuk pusat lapisan, dan lapisan dalam (sitoskeleton) mengandung protein membran spesifik, spektrin, dan ankyrin. Tahapan eritropoiesis ada pada Gambar 1.3.



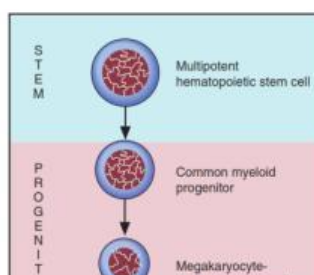


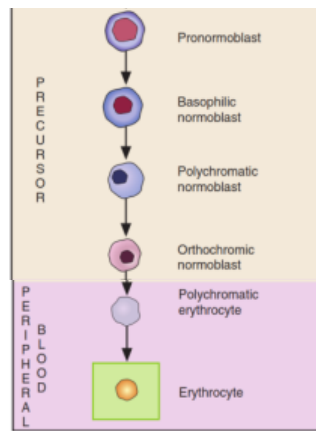
**Gambar 1.2** Karakteristik Perkembangan Eritrosit (Hamid, 2012)

**Tabel 1.3** Jenis dan Ciri-ciri Eritrosit

Jenis Eritrosit	Ciri-ciri
Pronormoblast	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Diameter berukuran 12-19 <math>\mu\text{m}</math></li> <li>- Rasio N:C adalah 4:1</li> <li>- Inti besar, inti bulat</li> <li>- Chromatin memiliki pola 0-2 nukleolus yang baik</li> <li>- Sitoplasma berwarna basofilik yang khas tanpa granula</li> </ul>
Normoblast basophilic	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Diameter berukuran 12-17 <math>\mu\text{m}</math></li> <li>- Rasio N:C adalah 4:1</li> <li>- Inti: kromatin inti lebih menggumpal (<i>clumped</i>), nukleoli biasanya tidak tampak, sitoplasma: berwarna khas basofilik</li> </ul>
Normoblast polikromatik	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Diameter berukuran 11-15 <math>\mu\text{m}</math></li> <li>- Rasio N :C adalah 1:1</li> <li>- Inti: peningkatan penggumpalan kromatin</li> <li>- Sitoplasma: warnanya antara pengecatan merah muda dicampur dengan basofilia</li> </ul>
Retikulosit (pewarnaan Supravital)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ukuran 7-10 <math>\mu\text{m}</math></li> <li>- Sel adalah eritrosit polikromatik anuklear</li> <li>- Sitoplasma: berwarna biru secara keseluruhan</li> </ul>
Normoblast atau eritrosit berinti	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ukuran 8-12 <math>\mu\text{m}</math></li> <li>- Inti: pola kromatin padat</li> <li>- Sitoplasma: berwarna kemerahan-merah muda (<i>acidophilic</i>)</li> </ul>
Eritrosit	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Diameter rata-rata 6-8 <math>\mu\text{m}</math></li> </ul>

(Hamid, 2012)





**Gambar 1.3** Tahapan Eritropoiesis (Rodak & Carr, 2017)

### 1.2.2 Eritropoietin

Eritropoiesis diatur oleh hormon eritropoietin. Eritropoietin merupakan glikoprotein hormon dengan berat molekul 30-39 kD yang akan berikatan dengan reseptor spesifik progenitor eritrosit, yang akan memberi sinyal untuk menstimulasi proliferasi dan diferensiasi. Pada keadaan normal, 90% hormon ini dihasilkan oleh peritubular interstitial (endothelial) ginjal, dan sisanya sebanyak 10% dihati. Eritropoietin diproduksi tubuh tergantung pada stimulus tekanan oksigen dalam jaringan ginjal. Bila tekanan oksigen rendah seperti pada keadaan anemia dan hipoksia maka nefron ginjal akan merespon dengan memproduksi eritropoietin sehingga terjadi peningkatan produksi eritrosit di sumsum tulang. Sebaliknya, suplai oksigen yang meningkat pada jaringan (bila massa eritrosit meningkat atau hemoglobin mudah melepaskan  $O_2$ ) maka akan menyebabkan penurunan produksi hormon eritropoietin. Eritropoietin akan meningkat pada keadaan anemia maupun hipoksia jaringan. Bila terjadi peningkatan volume eritrosit, misalnya karena transfusi maka aktivitas eritropoietin di sumsum tulang akan menurun.

**Tabel 1.4** Perbedaan Terminologi Eritrosit Menurut *College of American (CAP)* dan *American society for Clinical Pathology (ASCP)*

CAP	ASCP
Pronormoblast	Rubriblast
Basophilic normoblast	Prorubricyte
Polychromatophilic normoblast	Rubricyte
Orthochromic normoblast	Metarubricyte
Reticulocyte	Reticulocyte
Erythrocyte	Erythrocyte

(Ciesla, 2007)

**Tabel 1.5** Tabel Perbedaan Normoblas, Retikulosit dan Eritrosit

Jenis Sel	DNA inti	RNA dalam sitoplasma	Dalam sumsum tulang	Dalam darah
Normoblas	√	√	√	-
Retikulosit	-	√	√	√

Eritrosit Matur	-	-	√	√
-----------------	---	---	---	---

(Ciesla, 2007)

### 1.2.3 Hemoglobin

Hemoglobin berasal dari dua kata, yaitu: *haem* dan *globin*. Hemoglobin mengandung feroprotoporfirin dan protein globin. Eritrosit mengandung protein khusus, yaitu hemoglobin untuk mencapai proses pertukaran gas antara  $O_2$  dan  $CO_2$ , dimana salah satu fungsi eritrosit adalah mengangkut oksigen ( $O_2$ ) ke jaringan dan mengembalikan karbondioksida ( $CO_2$ ) dari jaringan tubuh ke paru. Hemoglobin normal kadarnya 13,0-17,5 gr/dl pada pria dan 12,0-15,5 gr/dl pada wanita.

Selain itu darah juga berperan dalam menyuplai nutrisi, mengangkut zat sisa metabolisme, dan mengandung berbagai bahan penyusun sistem imun untuk pertahanan tubuh dari berbagai penyakit. Eritrosit mengandung protein globular yang mengandung besi (Fe), yaitu hemoglobin yang menyebabkan darah berwarna merah. Hemoglobin merupakan komponen utama eritrosit, terdiri dari globin dan heme. Heme terdiri dari cincin porfirin dengan satu atom besi (ferro). Sedangkan globin terdiri dari empat rantai polipeptida ( $\alpha_2\beta_2$ ), yaitu 2 rantai polipeptida alfa ( $\alpha_2$ ) dan 2 rantai polipeptida beta ( $\beta_2$ ). Rantai polipeptida  $\alpha$  memiliki 141 asam amino dan rantai polipeptida  $\beta$  mempunyai 146 asam amino. Pada keadaan normal, orang dewasa memiliki Hb A (96-98%), Hb F (0,5-0,8%), dan Hb A<sub>2</sub> (1,5-3,2%). Hb F memiliki afinitas  $O_2$  lebih tinggi daripada Hb A, sedangkan Hb S (Hb sabit) lebih rendah. Satu eritrosit mengandung kira-kira 640 juta molekul hemoglobin. Persentase hemoglobin normal ada pada Gambar 1.6.

Sekitar 65% hemoglobin disintesis pada stadium eritroblast, dan 35% sisanya pada stadium retikulosit. Terjadi sederet reaksi biokimia pada proses sintesis hemoglobin dalam mitokondria, diawali dengan kondensasi glisin dan suksinil koenzim A dibawah aksi enzim kunci delta-*amino laevulinic acid* (ALA)-sintetase. Koenzim reaksi ini adalah vitamin B6 yang di stimulasi oleh eritropoietin serta dihambat oleh hem. Kemudian protoporphyrin bersama dengan besi membentuk hem yang masing-masing molekulnya bergabung dengan rantai globin yang terbuat dari poliribosom. Selanjutnya tetramer 4 rantai globin dengan masing-masing gugus haemnya sendiri terbentuk dalam kantong guna membentuk molekul hemoglobin.

Hemoglobin dapat langsung mengikat  $CO_2$  jika  $O_2$  dilepaskan, dan kira-kira 15%  $CO_2$  di dalam darah diangkut langsung oleh molekul hemoglobin.  $CO_2$  bereaksi dengan gugus  $\alpha$ -amino terminal amino dari hemoglobin, sehingga terbentuk karbamat dan melepaskan proton. Hemoglobin mengikat 2 proton untuk setiap kehilangan 4 molekul  $O_2$  dan ikut mempengaruhi kemampuan pendaparan darah. Proses ini berlangsung terbalik pada paru, yaitu saat  $O_2$  berikatan dengan hemoglobin yang berada dalam keadaan tanpa  $O_2$  (deoksigenasi), proton dilepas dan bergabung dengan bikarbonat kemudian membentuk asam karbonat. Asam karbonat membentuk gas  $CO_2$  (dengan bantuan enzim karbonik anhidrase) yang kemudian dihembuskan ke luar.

**Tabel 1.6** Hemoglobin Normal

	Hb A	Hb A <sub>2</sub>	Hb F
Struktur	$\alpha_2\beta_2$	$\alpha_2\delta_2$	$\alpha_2\gamma_2$
Dewasa normal (%)	96-98	1,5-3,5	0,5-0,8

(Mehta & Hoffbrand, 2008)

### 1.3 LEUKOSIT

Leukosit merupakan sel darah putih dan mempunyai inti sel. Leukosit berperan dalam sistem pertahanan tubuh untuk menahan masuknya benda asing (antigen) penyebab penyakit yang masuk ke dalam tubuh manusia melalui dua cara, yaitu fagositosis dan mengaktifkan respon imun tubuh. Leukosit dapat melawan antigen berupa mikroorganisme yang telah dikenal dan bersifat spesifik, seperti virus HIV,

bakteri penyebab TBC, dan sel kanker. Leukosit juga mampu menghancurkan dan membersihkan sel-sel tubuh yang telah mati. Jumlah normal leukosit adalah 5.000-10.000 sel/ $\mu$ l. Peningkatan jumlah leukosit bisa disebabkan oleh adanya infeksi atau kerusakan jaringan. Leukosit mempunyai kemampuan menembus pori-pori membran kapiler dan masuk ke dalam jaringan yang disebut *diapedesis*. Leukosit mampu bergerak sendiri seperti amoeba (*amoeboid*). Beberapa sel dapat bergerak tiga kali panjang tubuhnya dalam satu menit. Leukosit juga bersifat kemotaksis, yaitu akan bergerak mendekati (kemotaksis positif) atau bergerak menjauhi (kemotaksis negatif) ketika ada pelepasan zat kimia oleh jaringan yang rusak. Masa hidup leukosit bergranula relatif lebih pendek daripada leukosit tidak bergranula. Masa hidup leukosit bergranula dalam sirkulasi darah selama 4-8 jam dan di dalam jaringan selama 4-5 hari. Ini dikarenakan sel leukosit bergranula lebih cepat menuju daerah infeksi untuk melakukan fungsinya, daripada leukosit tidak bergranula.

Adanya peningkatan jumlah leukosit (leukositosis) terjadi bila tubuh mengalami infeksi. Penurunan jumlah leukosit disebut leukopenia. Leukopenia dapat disebabkan oleh stress berkepanjangan, infeksi virus, penyakit atau kerusakan sumsum tulang, radiasi atau kemoterapi, penyakit sistemik parah seperti lupus eritematosus, penyakit tiroid, dan sindrom cushing. Pada leukopenia, semua atau salah satu jenis leukosit saja yang dapat terpengaruh. Jumlah eritrosit leukosit menurun pada penyakit infeksi usus, keracunan bakteri (*septicemia*), kehamilan, dan partus.

### 1.3.1 Leukopoiesis

Leukopoiesis merupakan proses pembentukan leukosit. Proses ini dirangsang oleh *Colony Stimulating Factor* (CSF) yang dihasilkan oleh leukosit matur. Pembentukan leukosit terjadi di sumsum tulang (terutama seri granulosit), akan disimpan dalam sumsum tulang sampai diperlukan dalam sistem sirkulasi darah. Granulosit akan dilepaskan pada sirkulasi darah jika kebutuhannya meningkat. Proses pembentukan limfosit terjadi pada beberapa jaringan, yaitu sumsum tulang, timus, limpa, dan *limfonoduli*. Sedangkan proses pembentukannya dirangsang oleh timus dan adanya paparan antigen. Pertambahan jumlah leukosit terjadi melalui proses mitosis, yaitu proses pertumbuhan dan pembelahan sel yang berurutan. Sel-sel ini membelah diri dan berkembang menjadi leukosit matur dan dilepaskan dari sumsum tulang ke sirkulasi darah. Leukosit berada dalam peredaran darah  $\pm$  1 hari kemudian masuk ke dalam jaringan sampai beberapa minggu atau bulan tergantung pada jenis leukositnya. Jangka waktu hidup leukosit ada pada Tabel 1.7.

Umumnya progenitor myeloid menghasilkan tiga jenis progenitor, yaitu granulosit/ monosit, eosinofil/ basofil, dan eritrosit/ megakariosit. Masing-masing membelah dan matur menjadi sel yang dikenal dengan blast, satu untuk setiap *cell line*. Namun, tidak mungkin untuk membedakan berbagai blast dengan menggunakan mikroskop cahaya.

Ada dua jenis leukosit, yaitu granulosit dan agranulosit. Oleh karena itu pembentukannya disesuaikan dengan seri leukositnya. Pembentukan sel seri granulosit atau *granulopoiesis* dimulai dengan fase *mieloblast*. Pada pembentukan sel seri agranulosit ada dua jenis sel, yaitu limfosit dan monosit. Pada pembentukan limfosit (limfopoiesis) diawali dengan fase *limfoblast*, sedangkan pembentukan monosit (monopoiesis) diawali oleh fase *monoblast*.

Granulopoiesis merupakan evolusi paling dini menjadi mieloblas dan menghasilkan produk akhir eosinofil, basofil, dan neutrofil. Proses ini membutuhkan waktu 7-11 hari. Mieloblas, promielosit atau progranulosit, dan mielosit mampu membelah diri dan membentuk kompartemen proliferasi atau mitotik. Setelah tahap ini selesai, tidak terjadi lagi pembelahan, kemudian sel mengalami maturasi dengan beberapa fase, yaitu metamielosit, neutrofil stab, dan neutrofil segmen. Sel-sel ini menetap dalam sumsum tulang sekitar 10 hari dan apabila diperlukan akan dikeluarkan ke dalam sirkulasi.

Limfopoiesis adalah proses pertumbuhan dan pematangan limfosit. Pada sumsum tulang normal sekitar 20% nya terdiri dari limfosit yang sedang berkembang. Setelah maturasi, limfosit masuk ke dalam pembuluh darah dan beredar dalam interval waktu yang berbeda tergantung pada sifat sel. Setelah itu berkumpul di kelenjar limfatik.

Monopoiesis berawal dari sel induk pluripoten yang menghasilkan berbagai sel induk dengan potensi lebih terbatas, diantaranya adalah unit pembentuk koloni granulosit yang bipotensial. Turunan sel ini menjadi prekursor granulosit atau menjadi monoblas. Monoblas mengalami pembelahan menjadi promonosit, sebagian berproliferasi menghasilkan monosit yang masuk ke sirkulasi darah, sedangkan sisanya merupakan cadangan sel yang perkembangannya sangat lambat. Proses pembentukan dari sel induk hingga menjadi monosit membutuhkan waktu sekitar 55 jam. Monosit tidak tersedia dalam sumsum tulang dalam jumlah besar namun setelah dibentuk berpindah ke dalam sinus. Monosit sebelum masuk ke jaringan, bertahan dalam pembuluh darah selama kurang dari 36 jam.

Terdapat enam jenis leukosit yang secara normal ditemukan di dalam darah, yaitu: eosinofil, basofil, neutrofil stab, neutrofil segmen, limfosit dan monosit. Persentase nilai normal jenis leukosit ada pada Tabel 1.8.

### 1.3.2 Jenis-Jenis Leukosit

#### a. Eosinofil

Eosinofil memiliki inti bilobus dan granula yang berwarna merah oranye (mengandung histamin). Eosinofil berperan dalam respon terhadap penyakit parasitik dan alergi. Pelepasan isi granula ke patogen yang lebih besar, seperti cacing sehingga mampu membantu proses destruksi dan fagositosis berikutnya. Jenis-jenis leukosit ada pada Gambar 1.4.

#### b. Basofil

Basofil berhubungan dengan sel mast karena berasal dari prekursor granulosit dalam sumsum tulang. Basofil merupakan jenis sel yang paling sedikit jumlahnya di darah perifer. Sel ini mempunyai granula gelap besar yang dapat menutupi inti. Granulanya berisi histamin dan heparin yang dilepaskan setelah proses pengikatan IgE ke reseptor permukaan. Basofil berperan penting pada reaksi hipersensitivitas segera. Sel mast juga berperan dalam pertahanan untuk melawan alergen dan patogen parasitik.

#### c. Neutrofil

Neutrofil merupakan sel yang berperan sebagai pertahanan tubuh pertama pada infeksi akut. Neutrofil mempunyai respon lebih cepat terhadap inflamasi dan cedera jaringan daripada leukosit lainnya. Segmen merupakan neutrofil yang matang/ matur, sedangkan stab merupakan neutrofil yang imatur dan dapat bermultiplikasi cepat pada infeksi akut. Neutrofil jumlahnya paling banyak di darah perifer. Masa hidup sel ini 10 jam di dalam sirkulasi. Ada kurang lebih 50% neutrofil dalam darah perifer menempel pada dinding pembuluh darah. Neutrofil masuk ke jaringan dengan cara bermigrasi sebagai respon terhadap faktor kemotaktik. Neutrofil berperan dalam migrasi, fagositosis, dan destruksi.

#### d. Limfosit

Limfosit merupakan komponen penting pada respon imun yang berasal dari sel stem hemopoietik. Sel stem limfoid umum mengalami diferensiasi dan proliferasi menjadi sel B (sebagai perantara imunitas humoral atau imunitas yang diperantarai antibodi) dan sel T (diproses di dalam timus) sebagai perantara imunitas seluler. Limfosit matur berupa sel mononuklear kecil dengan sitoplasma berwarna agak kebiruan. Limfosit yang ada di perifer sebagian besar adalah sel T (70%), yang kemungkinan memiliki sitoplasma dan mengandung granula lebih banyak daripada sel B. Pematangan limfosit terjadi terutama di sumsum tulang (sel B) dan di dalam timus (sel T) serta melibatkan kelenjar getah bening, hati, limpa, dan bagian sistem retikuloendotelial (RES) lain.

#### e. Monosit

Monosit berada dalam peredaran darah selama 20-40 hari. Kemudian masuk ke jaringan sebagai makrofag. Disini monosit matur dan menjalankan fungsi utamanya untuk fagositosis dan destruksi. Di jaringan monosit hidup beberapa hari sampai dengan beberapa bulan dengan morfologi yang

berubah-ubah namun berinti satu (mononuklear), sitoplasma keabuan dengan vakuola dan granul berukuran kecil di dalam darah perifer.

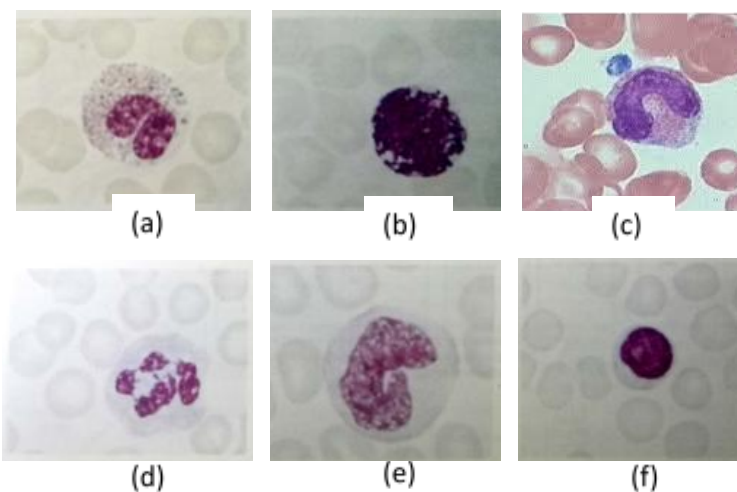
*Reticuloendothelial system* (RES) digunakan untuk mendeskripsikan sel yang berasal dari monosit dan tersebar di seluruh tubuh dalam beberapa organ dan jaringan, seperti pada hati (sel kupffer), paru (makrofag alveolar), ginjal (sel mesangial), otak (mikroglial), dan sumsum tulang (makrofag), kulit, limpa, kelenjar getah bening, dan permukaan serosal. RES berfungsi untuk:

- Memfagositosis dan menghancurkan patogen dan debris selular.
- Memproses dan menyajikan antigen ke sel limfoid (*Antigen Presenting Cell/ APC*) yang terutama bereaksi dengan sel T kemudian melakukan *interdigitate* dalam kelenjar getah bening, limpa, timus, sumsum tulang, dan jaringan.
- Menghasilkan sitokin, seperti interleukin 1 yang mengatur dan berperan dalam jaringan kerja sitokin dan faktor pertumbuhan, melakukan perintah hematopoiesis, peradangan, dan respon seluler.

**Tabel 1.7** Jangka Hidup Leukosit

Jenis Sel	Dalam Sirkulasi Darah	Dalam Jaringan Hidup
Granulosit	6-8 jam, memendek pada infeksi akut	2-3 hari
Monosit	< 36 jam	Berbulan-bulan atau bertahun-tahun sebagai makrofag jaringan
Limfosit T	Beberapa jam tetap dalam darah, di sirkulasi kira-kira setiap 10 jam	Bervariasi, mulai beberapa hari sampai beberapa tahun
Limfosit B	Sedikit yang beredar	Umumnya menetap dalam jaringan limfoid setelah menjadi sel plasma, hidup 2-3 jam

(Bloom & Fawcett, 2002)



**Gambar 1.4** Jenis-jenis Leukosit: (a) eosinofil; (b) basofil; (c) neutrofil stab; (d) neutrofil segmen; (e) limfosit; (f) monosit (Hoffbrand *et al.*, 2005)

**Tabel 1.8** Persentase Nilai Normal Hitung Jenis Leukosit



Nilai Hitung Jenis leukosit			
Jenis leukosit	Dewasa		Anak
	%	$\mu\text{l (mm}^3\text{)}$	Sama dengan dewasa, kecuali
Neutrofil (total)	50 – 70	2500 – 7000	Bayi baru lahir: 61% Usia 1 tahun: 32%
Segmen	50 – 65	2500 – 6500	
Stab	0 – 5	0 – 500	
Eosinofil	1 – 3	100 – 300	
Basofil	0,4 – 1,0	40 – 100	
Monosit	4 – 6	200 – 600	Usia 1 sampai 12 tahun: 4% – 9%
Limfosit	25 – 35	1700 – 3500	Bayi baru lahir: 34% Usia 1 tahun: 60% Usia 6 tahun: 42% Usia 12 tahun: 38%

(Kee, 2007)

## 1.4 TROMBOSIT

Trombosit merupakan hasil fragmentasi sitoplasma megakariosit yang terbentuk di sumsum tulang. Regulator utama produksi trombosit adalah hormon trombopoietin (TPO) yang di sintesis di hati dan ginjal. Trombosit berperan penting dalam sistem hemostasis untuk menghentikan perdarahan dari pembuluh darah yang terluka. Adanya abnormalitas pada vaskuler, trombosit, koagulasi, dan fibrinolisis akan mengganggu sistem hemostasis pada sistem vaskuler yang dapat mengakibatkan terjadinya perdarahan abnormal.

Kinerja trombosit dalam sistem penutupan luka, yaitu: ketika bersinggungan dengan permukaan pembuluh yang rusak maka sifat-sifat trombosit berubah secara spontan, yaitu: 1) trombosit membengkak berbentuk irregular dengan tonjolan yang muncul dari permukaannya, 2) terjadi kontraksi secara kuat pada protein kontraktilnya sehingga menyebabkan pelepasan granula yang mengandung berbagai faktor aktif, 3) trombosit menjadi lengket kemudian menempel pada serat kolagen, 4) mensekresi sejumlah besar ADP dan enzim-enzimnya membentuk tromboksan A<sub>2</sub> yang disekresikan ke dalam darah, 5) ADP bersama tromboksan mengaktifkan trombosit yang berdekatan dan karena sifat lengketnya ini menyebabkan melekat pada trombosit semula yang sudah aktif sehingga terbentuk sumbat trombosit. Sumbat trombosit ini bersifat longgar namun sudah mampu menghalangi keluarnya darah jika luka di pembuluh darah berukuran kecil. Kemudian terbentuklah benang-benang fibrin dan melekat pada trombosit selama proses pembekuan darah sehingga sumbat trombosit menjadi yang kuat dan rapat.

Struktur trombosit memiliki zona luar yang jernih dan zona dalam yang berisi organel-organel sitoplasmik. Berdasarkan fungsinya trombosit dibagi menjadi empat zona yang mempunyai fungsinya masing-masing. Empat zona itu antara lain:

- 1) Zona perifer berfungsi untuk adhesi dan agregasi.
- 2) Zona sol gel untuk menunjang struktur serta mekanisme kontraksi.
- 3) Zona organel untuk pengeluaran isi trombosit.
- 4) Zona membran yang keluar dari isi granula ketika pelepasan.

Pada permukaannya, trombosit memiliki selubung reseptor glikoprotein yang berperan dalam reaksi adhesi dan agregasi yang mengawali terbentuknya sumbat hemostatis untuk menutup luka. Beberapa tahap dalam pembentukan sumbat hemostatik, yaitu: adhesi trombosit, agregasi trombosit, dan reaksi pelepasan. Bila tidak ada trombosit maka akan terjadi kebocoran darah spontan melalui pembuluh darah kecil. Reaksi trombosit berupa adhesi, sekresi, agregasi, fusi dan aktivitas prokoagulan sangat penting untuk proses penutupan luka bila ada cedera pembuluh darah.

### 1.4.1 Trombopoiesis

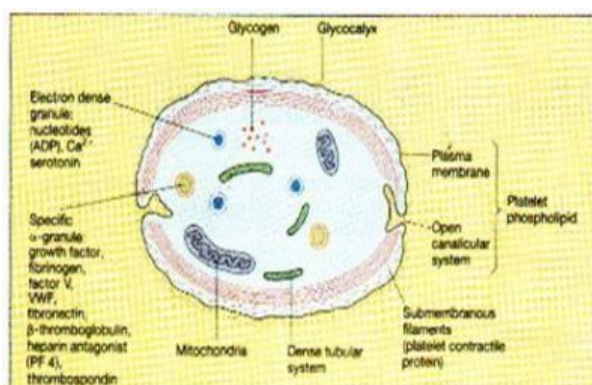
Trombosit terbentuk dari megakariosit di sumsum tulang. Megakariosit merupakan sel yang sangat besar dalam susunan hematopoietik dalam sumsum tulang belakang yang kemudian memecah menjadi trombosit atau keping-keping darah. Trombosit dihasilkan dengan cara fragmentasi (melepaskan diri) dari perifer sitoplasma megakariosit akibat stimulus trombopoietin. Megakariosit berasal dari megakarioblas yang merupakan hasil diferensiasi dari sel induk hematopoietik prekursor mieloid paling awal yang membentuk megakariosit. Gambar struktur trombosit ada pada Gambar 1.5.

Megakariosit mengalami maturasi dengan replikasi inti endomitotik secara sinkron, volume sitoplasmanya bertambah besar sejalan dengan penambahan lobus inti menjadi dua kali lipat. Selanjutnya sitoplasma menjadi granula dan trombosit dilepaskan dalam bentuk *platelet* atau keping darah. Trombosit yang dihasilkan oleh tiap megakariosit sekitar  $\pm$  4000 trombosit. Sel induk hematopoietik mulai berdiferensiasi sampai dengan menghasilkan trombosit memerlukan waktu sekitar 10 hari. Trombosit matur berukuran 2-4  $\mu\text{m}$  dan jumlah normalnya dalam darah tepi sekitar 150.000-350.000/ $\mu\text{l}$ . Lama hidup trombosit sekitar 7-10 hari, diameter sekitar 1-2  $\mu\text{m}$ , dengan volume sel rerata 5,8 fL yang akan berkurang pada saat maturasi dalam sirkulasi.

Trombosit muda yang telah mengalami pelepasan dari sumsum tulang akan berada 24-36 jam di dalam limfa. Trombosit adalah struktur yang aktif, waktu paruh hidupnya 8-12 hari dalam darah kemudian proses fungsionalnya berakhir. Meskipun tidak memiliki inti sel, namun trombosit mempunyai ciri khas fungsional seperti sel, antara lain:

- 1) Sitoplasmanya memiliki beberapa faktor aktif yaitu molekul aktif dan myosin serta protein kontraktile yang menyebabkan trombosit berkontraksi.
- 2) Sisa-sisa retikulum endoplasma dan apparatus golgi mensintesis mensintesis enzim dan menyimpan ion kalsium.
- 3) Mitokondria dan sistem enzim dapat membentuk adenosin trifosfat (ATP) dan adenosin difosfat (ADP).
- 4) Sistem enzim mensintesis prostaglandin yang menyebabkan reaksi pembuluh darah dan reaksi jaringan lainnya.
- 5) memiliki protein sebagai faktor stabilisasi fibrin.
- 6) Memiliki faktor pertumbuhan yang menyebabkan penggandaan dan pertumbuhan sel endotel pembuluh darah dan fibroblast yang dapat memperbaiki dinding pembuluh darah yang rusak.

Lapisan glikoprotein pada permukaan membran sel trombosit menyebabkan trombosit mampu menghindari perlekatan pada endotel normal dan hanya melekat pada dinding pembuluh darah yang cedera atau luka, terutama pada daerah sel endotel yang rusak dan jaringan kolagen yang terbuka di pembuluh darah. Membran trombosit mengandung fosfolipid yang berperan mengaktifkan faktor-faktor pembekuan darah.



**Gambar 1.5** Struktur Trombosit (Wirawan & Silman, 2000)



## BAB 2

### KELAINAN MORFOLOGI ERITROSIT

Eritrosit normal berbentuk cakram bikonkaf dan tidak memiliki inti sel. Bentuk bikonkaf mempunyai area permukaan yang luas sehingga jumlah oksigen yang terikat hemoglobin lebih banyak. Selain itu morfologi eritrosit mampu berubah bentuk agar mudah melewati kapiler yang kecil. Variasi dalam ukuran, bentuk, dan warna eritrosit dapat dilihat pada hapusan darah tepi (HDT) dengan pemeriksaan secara mikroskopis menggunakan pewarnaan *Wright* atau *Romanowsky*. Adanya variasi morfologi eritrosit ini diakibatkan oleh kondisi patologis. Variasi morfologi eritrosit dapat dibagi menjadi variasi dalam ukuran, bentuk, warna, inklusi eritrosit dan perubahan dalam distribusi eritrosit.

#### 2.1 Variasi Ukuran Eritrosit

a. Normositik

Merupakan ukuran eritrosit normal, kira-kira 6,8-7,5  $\mu\text{m}$  dan *Mean Corpuscular Volume* (MCV) 80-100 fL. Eritrosit normal berukuran hampir sama dengan inti limfosit kecil.

b. Makrositosis

merupakan keadaan diameter rata-rata eritrosit lebih dari 8,2  $\mu\text{m}$ , *Mean Corpuscular Volume* (MCV) lebih dari 100 fL. Adanya makrositosis berhubungan dengan penyakit liver, defisiensi vitamin B12, defisiensi folat, neonatus, dan retikulositosis. Sering dijumpai pada anemia megaloblastik, anemia pada kehamilan, anemia makrositik (anemia perniosa, anemia defisiensi asam folat). Makrositosis disebabkan oleh cacat maturasi inti sel pada eritropoiesis, adanya defisiensi vitamin B12 atau folat yang menyebabkan gangguan pembelahan mitosis di sumsum tulang. Selain itu, adanya peningkatan stimulasi eritropoietin menyebabkan sintesis hemoglobin meningkat dalam perkembangan sel, sehingga eritrosit berukuran lebih besar dari ukuran normal.

c. Mikrositosis

Merupakan keadaan diameter rata-rata eritrosit kurang dari 6,2  $\mu\text{m}$ , dengan *Mean Corpuscular Volume* (MCV) kurang dari 80 fL. Ditemukan pada kasus anemia defisiensi besi, thalasemia minor, inflamasi kronis, keracunan timbal, hemoglobinopati, dan anemia sideroblastik. Penyebab mikrositosis karena adanya penurunan sintesis hemoglobin yang disebabkan oleh defisiensi besi, gangguan sintesis globulin, atau kelainan mitokondria yang mempengaruhi sintesis heme pada molekul hemoglobin.

d. Anisositosis

Merupakan adanya variasi ukuran eritrosit atau volume eritrosit pada hapusan darah tepi (HDT). Umumnya dijumpai pada kasus anemia kronik yang berat. Variasi ini berhubungan dengan lebar distribusi sel darah merah (*Red blood cell Distribution Width/ RDW*) yang ditentukan secara

elektronik. RDW yang lebih besar dari 14,5% menunjukkan populasi eritrosit yang heterogen, dan akan terlihat berbagai ukuran eritrosit. Nilai RDW yang rendah akan diabaikan.

## 2.2 Variasi Warna Eritrosit

### a. Normokromia

Merupakan keadaan eritrosit dengan konsentrasi hemoglobin normal. Nilai *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration* (MCHC) 32%-36%. Eritrosit normal berwarna merah dengan daerah tengah (*central pallor*) berwarna lebih pucat. Warna merah pada eritrosit adalah refleksi adanya hemoglobin dalam sel. Sedangkan warna pucat merupakan bagian tipis dari sel, dengan diameter tidak melebihi sepertiga bagian sel.

### b. Hipokromia

Merupakan keadaan eritrosit dengan konsentrasi hemoglobin kurang dari normal. Ditunjukkan dengan daerah pucat (*central pallor*) melebihi sepertiga dari diameter sel. Keadaan ini bisa disebabkan karena cadangan besi yang tidak mencukupi sehingga sintesis hemoglobin menurun. Untuk menentukan hipokromia dapat menggunakan nilai *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration* (MCHC), bukan *Mean Corpuscular Hemoglobin* (MCH). Namun MCHC tidak selalu menurun ketika beberapa sel hipokromik terlihat

### c. Hiperkromia

Merupakan keadaan eritrosit dengan konsentrasi hemoglobin lebih dari normal.

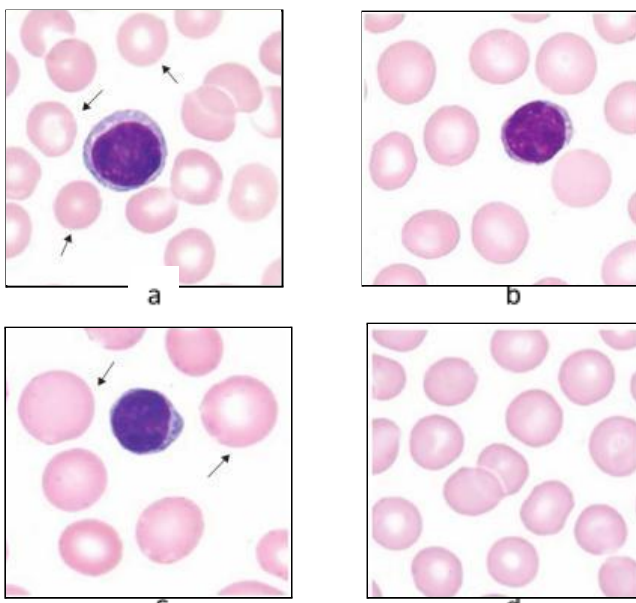
### d. Polikromasia

Merupakan eritrosit yang lebih besar dan berwarna lebih biru dari eritrosit normal. Bentuk ini mempertahankan RNA dalam eritrosit. Keadaan beberapa warna pada eritrosit, seperti: basofilik, asidofilik, polikromatofilik. Keadaan ini berkaitan dengan perdarahan akut dan kronis, hemolisis, pengobatan efektif untuk anemia, dan neonatus.

## 2.3 Variasi Bentuk Eritrosit

### a. Echinocyte (Burr sel)

Memiliki 10-30 duri (tonjolan pendek) pada membran sel, bentuknya sering memanjang dan tidak teratur. Sel Burr kurang bulat daripada akantosit. Burr sel dapat terjadi sebagai artefak dalam apusan darah yang terpaksa mengering melalui pengocokan berulang. Dijumpai pada berbagai jenis anemia, perdarahan di ulkus lambung, carcinoma lambung, insufisiensi ginjal, defisiensi piruvat kinase, dan uremia atau dehidrasi.



**Gambar 2.1** Variasi Ukuran Eritrosit: (a) Mikrosit, (b) Normosit, (c) Makrosit, (d) Polikromasia (Rodak & Carr, 2017)

- b. *Acanthocyte* (akantosit)  
Berbentuk seperti duri yang tidak teratur (tonjolan-tonjolan panjang seperti jalu), sekitar 2-20 tonjolan yang berada di sekitar membran sel. Ditemukan pada anemia hemolitik pada sirosis hati, hemangioma hati, hepatitis neonatal, dan splenektomi.
- c. *Spherocyte* (sferosit)  
Diameternya kurang dari 6,5  $\mu\text{m}$  tetapi hiperkrom. Bentuknya lebih bulat dan tebal daripada eritrosit normal, tidak terdapat bagian pucat ditengah sel, pada irisan melintang berbentuk bikonveks bukan bikonkaf. Pada hapusan darah tepi tampak padat, gelap, dan kecil. Sferosit secara osmotik bersifat rapuh daripada eritrosit normal. Terjadi pada sferositosis hereditas, anemia hemolitik setelah transfusi, luka bakar, terkena bisa ular, luka karena bahan kimia, anemia imuno hemolitik.
- d. *Codocyte* (sel Target)  
Eritrosit berbentuk sangat pipih, dibagian tengahnya berwarna kemerahan, menyerupai target dengan titik pusat pigmen hemoglobin yang dikelilingi area pucat. Sel ini terlihat di darah tepi karena tiga mekanisme, yaitu sebagai artefak, karena volume berkurang karena kehilangan hemoglobin, dan karena meningkatnya membran permukaan eritrosit. Ditemukan pada kasus ketika hemoglobin dipengaruhi secara kualitatif, seperti thalasemia, penyakit hati, postsplenektomi, Hb SS, Hb CC, Hb SC.
- e. *Drepanocyte* (*Sickle cell*)  
Eritrosit berbentuk bulan sabit dengan bagian runcing di salah satu ujung terminal eritrosit. Bentuknya tipis memanjang seperti huruf L, V, S, tidak ada *central pallor* mengarah pada polimerisasi hemoglobin sikel. Hemoglobin sabit (Hb S) merupakan hemoglobin abnormal. Eritrosit dengan hemoglobin S memiliki waktu hidup yang sangat pendek, ketika akan melewati limpa dan ginjal Hb S membentuk ikatan kaku dan kurang elastis sehingga tidak dapat menembus mikrosirkulasi limpa. Dijumpai pada kasus thalasemia, Hb SS, Hb S, Hb SC, Hb C Harlem, Hb Memphis S, Hb SD-Punjab.
- f. *Schistocyte* (sel *Helmet*)  
Eritrosit yang terluka seperti helm *football*, kehilangan sebagian membran selnya, fragmen, atau berbentuk segitiga (triangular). Sel yang mengalami fragmentasi, membran eritrositnya terpotong dan hemoglobinya bocor melalui membrannya sehingga menyebabkan anemia. Schistocytes mungkin ditemui sebagai hasil dari *shear stress* dari disposisi trombin sistemik yang dihasilkan dari *disseminated intravascular coagulation* atau *thrombotic thrombocytopenic purpura* (TTP). Selain itu juga ditemukan pada penyakit MAHA, DIC, hipertensi maligna, setelah operasi katup jantung, pasien luka bakar.
- g. *Stomatocyte* (stomatosit)  
Eritrosit berbentuk seperti topi meksiko. Daerah pucatnya memanjang berbentuk mulut atau elips. Terdapat pada somatosis hereditas, alkoholik akut/ kronis, sirosis, penyakit hati obstruktif.
- h. *Dacryocyte* (*Tear drop cell*)  
Eritrosit berbentuk seperti tetesan air mata. Ditemukan pada anemia megaloblastik, myelofibrosis, myelodisplasia.
- i. *Crenated erythrocyte*  
Eritrosit yang berbentuk seperti artefak. Disebabkan karena eritrosit mengalami pengerutan karena cairan yang ada didalam sel keluar melalui membran. Umumnya disebabkan sampel yang terlalu lama, fiksasi yang tidak segera dilakukan, kesalahan prosedur pra-analitik seperti penambahan antikoagulan
- j. *Elliptocyte* dan *ovalocyte*

Dua morfologi ini sebenarnya memiliki beberapa perbedaan yang mudah dikenali, yaitu: ovalosit berbentuk seperti telur dan mempunyai banyak variasi distribusi hemoglobin, sel ini dapat muncul makrositik, hipokromik, normokromik. Makroovalosit ditemukan pada anemia megaloblastik. Ovalosit monokromik umumnya dijumpai pada sindrom thalasemia.

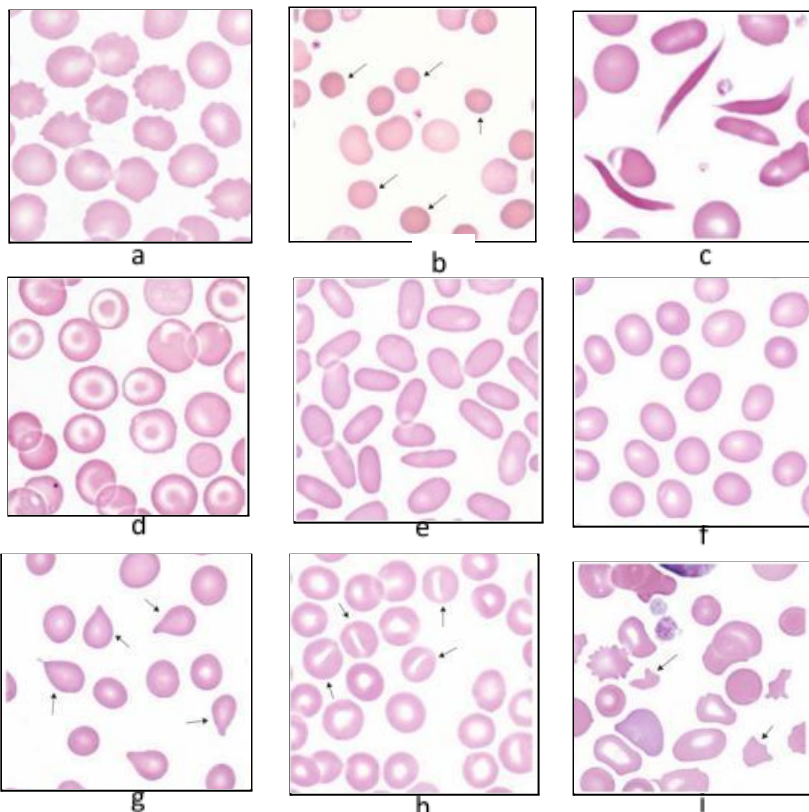
Eliptosit berbentuk lonjong atau seperti cerutu, morfologi yang berbeda ini berasal dari komponen spektrin dan protein abnormal (keduanya protein membran eritrosit) berasal. Terjadi pada eliptositis herediter, 2 genotip lain dari kelainan ini ialah piropoikilositosis herediter, eliptositis herediter sferositik. Eliptosit juga ditemukan pada anemia defisiensi besi, myelofibrosis idiopatik, anemia karena cancer, penyakit HbC, anemia hemolitik, anemia defisiensi besi, anemia pernisiiosa, anemia sel sabit, dan talasemia.

k. *Keratocyte*

eritrosit berbentuk seperti terompet dengan membran sel yang hancur dan ujungnya tumpul. Dijumpai pada pasien luka bakar, protesa vascular, *disseminated intravascular coagulation* (DIC).

l. Poikilositosis

Merupakan keadaan terdapat bentuk eritrosit yang bermacam-macam dalam sediaan hapusan darah tepi (HDT). Terjadi pada hemopoiesis ekstramedularis.



j

**Gambar 2.2** Variasi Bentuk Eritrosit: (a) Burr cell, (b) sferosit, (c) Sickle sel, (d) Targer sel, (e) Eliptosit, (f) Ovalosit, (g) Tear drop sel, (h) Stomatosit, (i) Akantosit, (j) Helmet sel (Rodak & Carr, 2017)

#### 2.4 Benda Inklusi Eritrosit

Sitoplasma semua eritrosit normalnya bebas dari serpihan, granula, maupun struktur lainnya. Inklusi yang ditemukan di dalam sitoplasma disebabkan oleh kondisi khusus. Badan inklusi eritrosit yang umum, antara lain:

a. *Heinz Body* (Badan Heinz)

Merupakan inklusi besar yang terbentuk pada eritrosit akibat stres oksidatif. Berasal dari polimerisasi dan presipitasi molekul hemoglobin yang telah mengalami denaturasi, struktur besar berukuran sekitar 1-3  $\mu\text{m}$ . Benda Heinz dapat *multiple* dan umumnya terletak di tepi sel. Tampak pada pewarnaan kristal violet, *brilliant cresyl blue* (BCB) dan *new methylen blue*. Sering ditemukan pada thalasemia, defisiensi G6PD.

b. *Howell-Jolly Body*

Merupakan inklusi berwarna biru, tunggal atau ganda, umumnya terletak di eksentrik (tepi) sel, diameter berukuran sampai dengan 1-2  $\mu\text{m}$ . Berasal dari sisa inti yang mengandung DNA. Ditemukan pada thalasemia, anemia hemolitik, anemia megaloblastik, pasca splenektomi, hiposplenemia fungsional.

c. *Cabot Ring*

Berbentuk cincin berwarna keunguan yang terletak pada tepi atau tengah eritrosit. Berasal dari sisa inti (mengandung titik-titik basofilik). Dijumpai pada anemia megaloblastik, thalasemia, pasca splenektomi.

d. *Pappenheimer Body* (granula sideroblastik)

Berbentuk benda kecil, irreguler, berwarna keunguan, berkelompok di tepi eritrosit. Pada eritrosit terdapat granula besi tersebar tidak merata, menunjukkan kelebihan besi (*free Fe*). Dengan pewarnaan *Prussian Blue* berwarna hijau kebiruan disebut granula sideroblastik. Dengan pewarnaan Wright disebut badan Pappenheimer. Sering ditemukan pada thalasemia, anemia sideroblastik, hemokromatosis, hemosiderosis, hemoglobinopati, pasca splenektomi.

e. *Basophilic Stippling*

Pada eritrosit terdapat titik-titik kecil (granula) berwarna biru tua (basofilik), merupakan sisa RNA dan mitokondria. Sisa-sisa ini muncul sebagai butiran basofilik yang terletak di seluruh sitoplasma dan terlihat seperti debu atau kasar. Umumnya sulit divisualisasikan dalam hapusan darah tepi (HDT) tanpa fokus yang bagus, namun basophilic stippling yang ditemukan bersifat polikromatofilik. Ditemukan pada anemia berat, keracunan timbal, thalasemia. Gangguan sintesa heme.

f. Eritrosit berinti

Dapat berupa metarubrisit dan rubrisit, disebabkan karena mengalami maturasi abnormal. Terdapat pada kasus anemia berat, eritropoiesis hiperaktif pada anemia hemolitik, mielofibrosis, pasca splenektomi

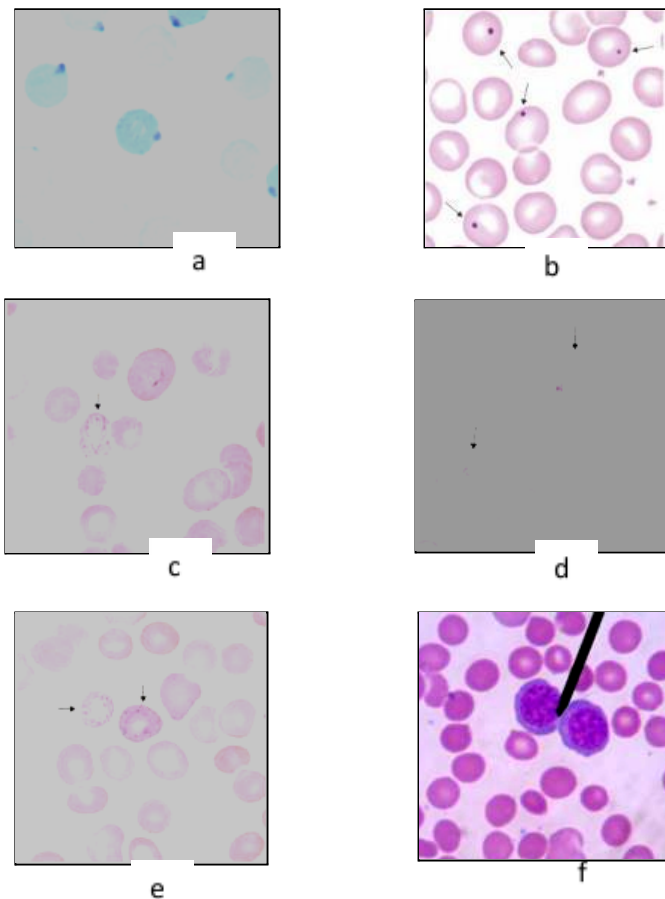
#### 2.5 Distribusi Eritrosit

a. *Rouleaux*

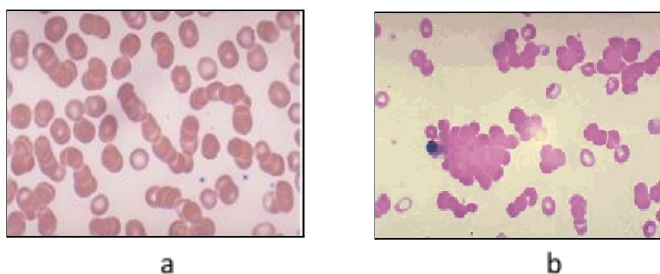
Merupakan agregasi eritrosit berbentuk seperti tumpukan koin. Bisa dijumpai pada akut dan kronik inflamasi, myeloma sel plasma, limfoplasmatik limfoma, paraproteinemia, dan makroglobulinemia.

*b. Autoagglutination*

Merupakan gumpalan eritrosit, garis tiap sel tidak terlihat jelas. Berkaitan dengan reaksi antigen-antibodi.



**Gambar 2.3** Macam-macam Badan atau Benda Inklusi Eritrosit: (a) Heinz body, (b) Howell-Jolly body, (c) Cabot ring, (d) Pappenheimer bodies, (e) Basophilic stippling, (f) Eritrosit berinti (Rodak & Carr, 2017)



**Gambar 2.4** Distribusi Eritrosit: (a) Rouleaux (b) Autoagglutination (Hamid, 2012)

**Tabel 2.1** Macam Badan Inklusi Eritrosit

Inklusi	Komposisi
---------	-----------

Heinz Bodies	Hemoglobin terdenaturasi
Howell-Jolly Body	DNA <i>in origin</i>
Pappenheimer bodies	Besi
Basophilic Stippling	Sisa RNA

(Ciesla, 2007)

### BAB 3 KELAINAN ERITROSIT

#### A. ANEMIA MIKROSITIK

Anemia adalah masalah kesehatan yang penting dalam populasi dunia, yang mempengaruhi setiap kelompok etnis dan strata sosial. Laboratorium klinis berperan dalam memberikan data klinis untuk menentukan penyebab dan pengobatan kondisi ini. Secara luas didefinisikan, ketika eritrosit tidak lagi dapat menyuplai oksigen ke jaringan tubuh, individu menjadi anemia. Anemia dapat diklasifikasikan berdasarkan fisiologinya atau morfologinya. Klasifikasi anemia secara morfologi berdasarkan pada indeks eritrosit, sedangkan klasifikasi secara fisiologis ditentukan berdasarkan gejala dan respons sumsum tulang. Pada bab ini akan membahas klasifikasi morfologis anemia. Nilai indeks eritrosit normal untuk MCV adalah 80-100 fL, MCH 27-31 pg, dan MCHC 32%-36%. Jika terjadi proses mikrositik, maka sintesis hemoglobin terganggu dan MCV < 80 fL dan MCHC < 32%.

Sel-sel darah merah disebut mikrositik, hipokromik, muncul sebagai eritrosit berukuran kecil dan terjadi defisiensi hemoglobin. Hasil pemeriksaan laboratorium dapat membantu mengenali proses anemia mikrositik yang sedang terjadi, menentukan penyebabnya, dan memutuskan manajemen pengobatan atau terapi. Yang termasuk anemia mikrositik antara lain: anemia defisiensi besi (ADB), anemia sideroblastik (*acquired* dan *inherited*), thalasemia.

Defisiensi besi merupakan penyebab anemia yang paling sering di dunia. Defisiensi adalah penyebab terpenting dari anemia mikrositik hipokrom. Hal ini disebabkan oleh defek sintesis hemoglobin. Kekurangan besi terjadi karena tubuh memiliki kemampuan terbatas untuk absorpsi besi dan seringkali mengalami kehilangan besi berlebihan akibat perdarahan.

#### **Distribusi dan Transportasi Besi**

Penyimpanan dan transportasi besi dalam tubuh memerlukan perantara tiga protein penting, yaitu transferin, reseptor transferin, dan ferritin. Transferin memiliki sampai dua atom besi. Transferin berperan mengangkut besi ke jaringan yang mempunyai reseptor transferin, khususnya eritroblas dalam sumsum tulang, yang menggabungkan besi menjadi hemoglobin. Kemudian transferin dipakai ulang. Pada akhir siklus hidupnya, eritrosit dipecah dalam makrofag pada RES dan besi dilepaskan dari hemoglobin, masuk ke



dalam plasma dan menyediakan sebagian besar besi untuk transferin. Hanya sedikit besi transferin plasma yang berasal dari makanan mengandung besi, diabsorpsi melalui duodenum dan jejunum.

Besi dalam makanan dalam bentuk ferri hidroksida, kompleks ferri-protein, dan kompleks heme-protein. Makanan yang mengandung besi antara lain, daging, hati, sayur-sayuran, telur, dan produk dari susu. Sebagian besi disimpan dalam sel retikuloendotelial sebagai feritin dan hemosiderin. Feritin merupakan kompleks besi-protein larut dalam air, terdiri dari apoferitin dan inti besi-fosfat-hidroksida, mengandung besi sampai dengan 20% beratnya. Setiap satu molekul apoferitin mampu mengikat 4000-5000 atom besi. Hemosiderin merupakan kompleks besi-protein dan mengandung besi mencapai 37% beratnya. Besi dalam feritin dan hemosiderin berada dalam bentuk ferri. Ferri direduksi berubah menjadi ferro dengan bantuan vitamin C. Kemudian seruloplasmin (enzim yang mengandung tembaga) mengkatalisis oksidasi besi menjadi bentuk ferri untuk berikatan pada transferin plasma.

Besi disimpan dalam otot sebagai mioglobin, serta pada sebagian besar sel-sel tubuh sebagai enzim mengandung besi, yaitu sitokrom, suksinat dehidrogenase, katalase, dan sebagainya. Besi yang tersimpan pada jaringan sangat kecil kemungkinannya untuk berkurang daripada hemosiderin, feritin, dan hemoglobin pada defisiensi besi namun dapat terjadi berkurangnya enzim yang mengandung heme.

Feritin dan reseptor transferin (TfR) berhubungan dengan status besi. Adanya kelebihan besi meningkatkan feritin jaringan dan menurunkan TfR. Pada keadaan defisiensi besi, kadar feritin menurun dan TfR meningkat. Ini disebabkan adanya pengikatan protein pengatur besi (IRP) pada unsur respon besi (IRE) pada feritin dan molekul *messenger* (m) RNA TfR. Adanya peningkatan besi plasma dan transferin yang menjadi jenuh akan menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah besi yang dipindahkan ke sel parenkim, seperti sel parenkim hati, organ endokrin, pankreas, dan jantung. Hal ini menjadi dasar perubahan patologi yang terjadi pada keadaan penimbunan besi.

### **Absorpsi besi**

Besi organik yang berasal dari makanan sebagian diabsorpsi sebagai heme, dan ada pula yang dipecah dalam usus menjadi besi anorganik. Proses ini terjadi di duodenum dengan dibantu oleh faktor-faktor seperti asam dan zat pereduksi yang mampu mempertahankan besi di lumen usus dalam keadaan  $Fe^{2+}$  protein *Divalent Metal Transporter* (DMT-1) berperan dalam pengangkutan besi dari lumen usus melalui mikrovilus enterosit. Ferroportin berperan mengatur keluarnya besi dari sel ke dalam plasma porta. Banyaknya besi yang diserap diatur sesuai dengan kebutuhan tubuh sesuai dengan status besi pada enterosit kriptus vili duodenum, dengan cara mengubah kadar DMT-1 dan ferroportin. Besi dari transferin plasma yang berikatan dengan reseptor transferin akan masuk ke dalam enterosit kriptus. Pada kasus defisiensi besi, jumlah besi yang dibawa ke sel kriptus dari transferin lebih sedikit, dan sebagian besar tidak terjenuhkan oleh besi.

### **3.1 Anemia Defisiensi Besi (ADB)**

#### **Patofisiologi dan Gejala**

Penyebab anemia defisiensi besi yang utama karena kehilangan darah atau asupan zat besi yang tidak memadai. Mungkin juga kondisi sekunder karena proses penyakit atau keadaan yang menghabiskan simpanan zat besi, seperti perdarahan gastrointestinal atau kehamilan. Dalam kedua kasus ini ADB akan memanifestasikan dirinya sebagai proses mikrositik hipokromik, di mana eritrosit berukuran kecil dan mengalami defisiensi hemoglobin. Pada pemeriksaan darah lengkap ditandai dengan jumlah eritrosit, hemoglobin, hematokrit, MCV, dan MCHC yang rendah. Proses anemia defisiensi besi terdiri dari tiga tahap:

- Tahap I: rangkaian kesatuan penipisan besi dari sumsum tulang (dengan pewarnaan Prussian blue akan menunjukkan ketiadaan besi)
- Tahap II: eritropoiesis yang kekurangan zat besi
- Tahap III: Akhirnya, kasus anemia defisiensi yang jelas dalam sirkulasi perifer.



Pada sebagian besar kasus, pasien tidak menunjukkan gejala yang jelas sampai anemia berkembang (tahap III), namun serum feritin akan menurun di setiap tahap. Tes laboratorium diagnostik seperti serum besi dan serum feritin dapat digunakan untuk mendiagnosis pasien sebelum anemia berkembang. Individu dalam kelompok berisiko tinggi harus dimonitor secara berkala untuk status zat besi. Ada banyak gejala yang menandai seseorang kekurangan zat besi. Beberapa gejala khas untuk kekurangan zat besi dan beberapa adalah gejala umum anemia. Secara klinis, pasien dengan anemia memiliki gejala:

- Mudah lelah
- Mudah lesu
- Pucat
- Vertigo
- Sesak nafas
- Intoleransi dingin

Selain itu, pasien ini mungkin mengalami masalah jantung seperti jantung berdebar dan angina. Gejala khas pada pasien anemia defisiensi besi adalah pica (keinginan yang tidak normal untuk zat-zat yang tidak biasa seperti tanah, es, atau tanah liat), *cheilitis* (peradangan di sekitar bibir), dan koilonychias (Gambar 3.1), yaitu kuku sendok, rapuh, bergaris-garis vertikal dan menjadi cekung seperti sendok). Selain itu, bukti menunjukkan bahwa kekurangan zat besi pada bayi dapat menyebabkan keterlambatan perkembangan dan gangguan perilaku. Pada wanita hamil, defisiensi besi pada dua trimester pertama dapat menyebabkan peningkatan kelahiran prematur dan peningkatan melahirkan anak dengan berat badan lahir rendah. Anemia mempengaruhi 3,5 juta orang di Amerika Serikat, dengan sekitar 50% dari kasus ini adalah ADB.

### **Tes Untuk Diagnosis Kekurangan Zat Besi**

Dari sudut pandang klinis, jika ada dugaan kekurangan zat besi maka diperlukan pemeriksaan untuk menganalisis status eritrosit dan status zat besi pasien. Pada pemeriksaan darah lengkap, semua parameter diperlukan, kecuali leukosit dan platelet jumlah akan berada di bawah rentang referensi normal. Dalam beberapa kasus, jika pasien mengalami perdarahan aktif, jumlah trombosit akan meningkat. MCV dan MCHC akan jauh lebih rendah dari biasanya, RDW mungkin sedikit meningkat, dan apusan perifer akan menunjukkan eritrosit berukuran kecil, yang defisiensi hemoglobin. Sel target dan eliptosit kadang dapat terlihat pada HDT. Jumlah retikulosit yang lebih rendah dibandingkan ke tingkat anemia, menunjukkan adanya sedikit gangguan eritropoiesis.

Parameter pemeriksaan untuk menilai status zat besi pasien antara lain, zat besi serum, feritin serum, transferin atau *total iron binding capacity* (TIBC), dan saturasi transferin. Zat besi serum adalah ukuran jumlah total zat besi dalam serum dengan nilai normal 50-150 µg/L. Serum ferritin adalah salah satu indikator paling sensitif dari cadangan besi, dengan nilai normal 20-250 µg/L untuk pria dan 10-120 µg/L untuk wanita. Ferritin adalah reaktan fase akut, dan kondisi seperti inflamasi kronis atau infeksi kronis dapat menyebabkan kadar feritin serum meningkat palsu. Dalam kasus ini, penilaian cadangan besi yang akurat akan sulit. TIBC mengukur ketersediaan *iron binding sites* pada molekul transferin. Jika seseorang kekurangan zat besi maka akan ada banyak *binding sites* yang tersedia untuk mencari zat besi dan kadar TIBC akan meningkat. Kadar ini meningkat pada pasien defisiensi besi (sekitar 250 hingga 450 µg/L) tetapi mengalami fluktuasi pada pasien yang menggunakan kontrasepsi oral atau memiliki penyakit hati dan infeksi kronis, atau sindrom nefrotik. TIBC kurang sensitif terhadap defisiensi zat besi dan harus dievaluasi dengan masalah kesehatan pasien lainnya. Saturasi transferin (% saturasi) diturunkan sebagai produk dari konsentrasi besi serum dibagi dengan TIBC dan dikalikan dengan 100. Nilai normal adalah 20%-50%.

### **Penyebab Kekurangan Zat Besi**

Ada banyak populasi yang rentan mengalami anemia defisiensi besi (ADB). Bayi dan wanita hamil memungkinkan kekurangan nutrisi, anak-anak dapat mengalami ADB ketika pertumbuhan dan perkembangannya melebihi asupan zat besi mereka. Wanita mengalami peningkatan kebutuhan zat besi karena menstruasi dan kehamilan dapat menyebabkan ADB. Namun penyebab ADB yang utama di dunia barat disebabkan oleh pendarahan gastrointestinal (GI) pada pria dan menstruasi berlebihan pada wanita. Pada kedua kasus ini, darah hilang dari tubuh. Kehilangan darah eksternal merupakan tantangan besar bagi tubuh karena jutaan eritrosit tidak dapat digunakan untuk *recycling* eritrosit baru. Perdarahan GI dan perdarahan uterus disfungsi akan menyebabkan cadangan besi semakin sedikit dan menyebabkan ADB. Penyimpanan besi, diwakili oleh ferritin, merupakan reservoir utama besi yang dapat digunakan sebagai sumber besi jika lainnya habis. Konsentrasi ferritin rata-rata pada pria adalah 135 µg/L, wanita, 43 µg/L, dan anak-anak, 30 µg/L. Kecuali ada kehilangan darah eksternal lainnya, defisiensi besi semata-mata karena kurangnya sumber makanan akan berkembang selama periode waktu yang lama.

### 3.2 Anemia pada Penyakit Kronik

Beberapa penyakit kronik yang menyebabkan anemia, antara lain:

- a. Penyakit radang kronik karena infeksi, seperti: abses paru, tuberkulosis, osteomielitis, pneumonia, endokarditis bakterialis.

**Tabel 3.1** Perkiraan Kebutuhan Besi Harian dalam mg/hari

	Urine, keringat, feces	Mens truasi	Kehami lan	Pertumbu han	Total
Pria dewasa	0,5-1	-	-	-	0,5-1
Wanita pasca-meno	0,5-1	-	-	-	0,5-1
pause					
Wanita menstruasi*	0,5-1	0,5-1	-	-	1-2
Wanita hamil*	0,5-1	-	1-2	-	1,5-3
Anak (rata-rata)	0,5	-	-	0,6	1,1
Wanita (usia 12-15)*	0,5-1	0,5-1	-	0,6	1,6-2, 6

\*: kelompok yang rentan mengalami defisiensi besi (Hoffbrand *et al.*, 2005)

- b. Penyakit radang kronik karena non-infeksi, seperti: rheumatoid arthritis, lupus eritematosus sistemik, sarkoidosis, penyakit Crohn
- c. Penyakit keganasan, seperti: karsinoma, limfoma, dan sarkoma.

Patogenesis anemia ini berhubungan dengan menurunnya pelepasan besi dari makrofag ke plasma, umur eritrosit yang memendek, dan respon eritropoietin yang tidak adekuat karena efek sitokin seperti IL-1 dan TNF pada eritropoiesis. Anemia ini dapat teratasi dengan cara memberi pengobatan penyakit yang mendasarinya. Pada beberapa kasus dapat pula diberikan pemberian eritropoietin rekombinan untuk mengatasi anemia. Anemia karena penyakit kronik biasanya disertai dengan penyebab lain, seperti defisiensi besi, vitamin B<sub>12</sub> atau folat, kegagalan sumsum tulang, gagal ginjal, hipersplenisme, kelainan endokrin, anemia leukoeritroblastik, dan sebagainya.

Hasil dari tes laboratorium pada anemia ini memiliki gambaran, antara lain:

- a. Indeks dan morfologi eritrosit normositik normokrom atau hipokrom ringan (MCV jarang < 75 fL).

- b. Anemia ringan dan tidak progresif (hemoglobin jarang kurang dari 9,0 g/dL). Semakin berat penyakit maka anemia bersifat semakin berat.
- c. Menurunnya kadar besi dan TIBC dalam serum, kadar sTfR normal.
- d. Normal atau meningkatnya kadar feritin dalam serum.
- e. Berkurangnya kadar besi dalam eritroblas, namun kadar besi cadangan di sumsum tulang (retikuloendotel) normal.

### 3.3 Anemia Sideroblastik

Anemia ini mempunyai gambaran sel hipokrom dalam HDT dan meningkatnya kadar besi di sumsum tulang, serta banyak ditemukan sideroblas cincin (*ring sideroblast*) yang patologis di sumsum tulang. Sel ini merupakan eritroblas abnormal yang mengandung banyak granula besi. Penderita didiagnosis anemia sideroblastik bila ditemukan 15% atau lebih sideroblas cincin dalam sumsum tulang.

Penyebab anemia sideroblastik karena adanya defek dalam sintesis heme, dan diklasifikasikan menjadi dua, yaitu: hereditas dan didapat (*acquired*). Hereditas umumnya terjadi pada pria, dibawa oleh wanita, dan jarang terjadi pada wanita. Pada gambaran darah ditemukan sel hipokrom dan mikrositik. Secara hereditas juga disebabkan karena adanya defek mitokondria, responsif tiamin, dan defek autosom lain. Sedangkan secara *acquired* digolongkan lagi menjadi primer dan sekunder, yaitu:

#### a. Primer

Terjadi pada mielodisplasia (anemia refrakter dengan *ring sideroblast*)

#### b. Sekunder

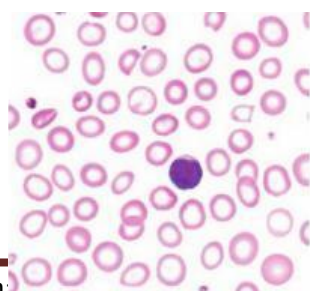
- Terjadi pada penyakit keganasan sumsum tulang, seperti mielofibrosis, leukemia myeloid, myeloma.
- Obat-obatan, seperti: antituberkulosis (isoniazid, sikloserin, alkohol, timbal).
- Kondisi lain, seperti: anemia hemolitik, anemia megaloblastik malabsorpsi, rheumatoid arthritis.



**Gambar 3.1** (a). Kuku koilonychia pada anemia defisiensi besi, (b). Kuku mencapai kelengkungan cembung normal setelah 4 bulan oral *iron replacement* (Razmi *et al.*, 2018)

### 3.4 Thalasemia

Thalasemia berasal dari kata Yunani thalassa, yang artinya “dari laut”. Relatif sedikit orang yang mengembangkan bentuk thalasemia yang parah, namun bagi yang mengalaminya harus melakukan transfusi seumur hidup dan manajemen medis untuk masalah multiorgan. Gen thalasemia ada di mana-mana, namun paling banyak terjadi di



**Gambar 3.2** Anemia defisiensi berat pada hapusan darah tepi (Rodak & Carr, 2017)

daerah Mediterania dan di Timur Tengah, Afrika Utara, India, Asia, dan populasi Karibia. Pasien dengan kondisi thalassemia mengalami anemia mikrositik dan status zat besi normal. Pasien dengan kondisi thalassemia mengalami anemia mikrositik dan status zat besi normal.

Thomas Cooley dan Dr. Pearl Lee pada kasus pertama thalassemia di Amerika Utara menggambarkan empat anak yang mengalami anemia, hepatosplenomegali, perubahan warna kulit, ikterus, dan fitur wajah yang khas serta perubahan tulang. Sumsum tulang mereka menunjukkan hiperplasia eritroid dan apusan darah perifer menunjukkan banyak eritrosit berinti, sel target, dan mikrosit. Tidak banyak yang berubah dalam presentasi awal seseorang dengan penyakit thalassemia atau thalassemia mayor. Sampai sekarang penyakit ini belum ada obatnya.

### **Patofisiologi Thalasemia**

Thalasemia tidak ada hubungannya dengan zat besi. Thalasemia merupakan kelainan rantai globin yang berkaitan

**Tabel 3.2** Diagnosis Laboratorium Anemia Hipokrom

	<b>Defisiensi besi</b>	<b>Radang Kronik/keganasan</b>	<b>Pembawa gen thalasemia (<math>\alpha</math> atau <math>\beta</math>)</b>	<b>Anemia Sideroblastik</b>
<b>MCV</b> <b>MCH</b>	Menurun sebanding dengan beratnya anemia	Normal atau sedikit menurun	Menurun, sangat rendah bila dibanding derajat anemia	Umumnya rendah pada jenis kongenital, MCV sering meningkat pada jenis <i>acquired</i>
<b>Besi serum</b>	Meningkat	Menurun	Normal	Meningkat
<b>TIBC</b>	Meningkat	Menurun	Normal	Normal
<b>Reseptor transferin serum</b>	Meningkat	Normal/rendah	Bervariasi	Normal
<b>Feritin serum</b>	Menurun	Normal/meningkat	Normal	Meningkat
<b>Cadangan besi sumsum tulang</b>	Tidak ada	Ada	Ada	Ada
<b>Besi eritroblas</b>	Tidak ada	Tidak ada	Ada	Bentuk cincin
<b>Eritropoiesis hemoglobin</b>	Normal	Normal	HbA <sub>2</sub> meningkat dalam bentuk $\beta$	normal

(Hoffbrand *et al.*, 2005)

dengan kurangnya produksi rantai alfa atau beta globin. Talasemia adalah kegagalan sintesis hemoglobin. Kegagalan mensintesis rantai alfa atau beta merusak produksi fisiologis normal

hemoglobin dewasa, hemoglobin A ( $\alpha_2\beta_2$ ), hemoglobin A2 ( $\alpha_2\delta_2$ ), dan hemoglobin F ( $\alpha_2\delta_2$ ). Konstruksi setiap hemoglobin normal ini bergantung pada rantai alfa dan beta yang disintesis sebagai bagian dari tetramer normal mereka. Ketika sintesis ini terganggu, hemoglobin terbentuk sebagai hasil dari produksi rantai yang tidak seimbang yang secara negatif mempengaruhi rentang hidup eritrosit. Selain itu, ada komplikasi multiorgan, pengembangan anemia mikrositik, dan apusan darah tepi dengan banyak eritrosit dengan morfologi abnormal.

Ada dua tipe utama thalasemia, yaitu: thalasemia alfa dan thalasemia beta. Thalasemia alfa merupakan hasil dari kehilangan gen. Setiap individu mewarisi empat gen alfa, dua dari ibu dan dua dari ayah. Thalasemia alfa terjadi karena kehilangan satu atau lebih gen alfa. Sedangkan thalasemia beta terjadi karena warisan gen beta yang rusak, baik dari satu orang tua (heterozigot) atau dari kedua orang tua (homozigot). Pada tingkat molekuler, kerusakan rantai beta merupakan hasil dari transkripsi RNA messenger yang salah.

### **Thalasemia Alfa**

Thalasemia alfa banyak terjadi pada populasi Asia, seperti Thailand, Vietnam, Kamboja, Indonesia, dan Laos. Juga ditemukan di Arab Saudi dan Filipina. Rantai alfa penting sebagai konstruksi semua hemoglobin fisiologis dewasa normal, karena setiap hemoglobin dewasa tergantung pada produksi rantai alfa. Rantai alfa juga sangat penting dalam perkembangan hemoglobin pada janin. Tanpa pengembangan rantai alfa, tidak ada Hgb F yang terbentuk. Ada empat keadaan klinis thalasemia alfa yang terkait dengan jumlah gen alfa yang hilang.

Pada Gambar 3.3 terlihat keadaan yang paling parah adalah *Barts hydrops fetalis*, di mana ada absen total sintesis rantai alfa: tidak terbentuk hemoglobin A, hanya Hemoglobin Barts ( $\gamma_4$ ), sebuah hemoglobin afinitas oksigen tinggi. Karena hemoglobin ini adalah tetramer dan pencinta oksigen yang abnormal (Hemoglobin Barts memegang oksigen dan menolak memberikan oksigen ke jaringan), anemia yang semakin parah dan biasanya mengarah pada lahir mati atau aborsi spontan. Penyakit Hemoglobin H adalah kondisi paling parah berikutnya. Di sini, hanya ada satu gen alfa fungsional, dan tiga gen lainnya *deleted*. Sedikit hemoglobin A diproduksi sebagai gantinya, hemoglobin H baru terbentuk, yang juga merupakan tetramer yang cukup tidak stabil ( $\beta_4$ ) dan mewakili 5-40% pada elektroforesis alkali. Kadar hemoglobin kurang dari 10 g/dL (rata-rata 6-8 g/dL), dan jumlah retikulosit sekitar 5-10%. Tampak mikrositosis dan hipokromia bila diamati pada apusan darah tepi dengan fragmen-fragmen eritrosit. Terlihat inklusi yang abnormal, yaitu terbentuk inklusi hemoglobin. Pada pewarnaan supravital, dengan cresyl blue atau crystal violet tampak seperti bola golf yang berbintik-bintik (Heinz bodies).

Dalam sirkulasi perifer, inklusi ini biasanya diadu dengan eritrosit, membuat sel lebih rapuh dan kurang elastis dengan usia yang lebih pendek. Individu dengan penyakit hemoglobin H memiliki anemia seumur hidup dengan perubahan splenomegali dan tulang yang bervariasi. Dua kondisi klinis terakhir tidak terlalu parah, terjadi pada keadaan penghapusan dua gen, sifat thalasemia alfa, dan keadaan penghapusan satu gen, *the silent carrier*. Individu dengan sifat thalasemia alfa hanya memiliki dua gen hemoglobin A yang layak dan mungkin hanya mengalami anemia ringan dengan banyak sel mikrositik dan hipokromik. Beberapa Hemoglobin Barts akan terbentuk. *The silent carrier* secara hematologis normal atau sedikit mikrositik, dan karena itu pasien mungkin tidak menyadari status gen alfa-nya. Karena mendiagnosis pasien dari kedua himpunan thalasemia alpha ini (*alpha thalassemia trait/silent carrier*) mungkin sulit, penting untuk dicatat bahwa keberadaan *elliptocytes* dan sel target dalam hapusan darah tepi dapat memberikan nilai prediksi yang tinggi.

### **Thalasemia Beta**

Mayor thalasemiabeta juga disebut *Cooley's Anemia* atau *Mediterranean Fever*. Kelainan darah bawaan ini mempengaruhi jutaan orang di seluruh dunia. Pada beta thalasemia mayor, ada sedikit

atau tidak ada rantai beta yang disintesis, karena itu tidak ada (atau jumlah yang sangat kecil) hemoglobin A yang disintesis. Kondisi ini hasil dari perpaduan antara dua *carrier*. Beta thalasemia mayor adalah kelainan darah genetik yang serius, mempengaruhi banyak organ, kualitas hidup, dan umur panjang.

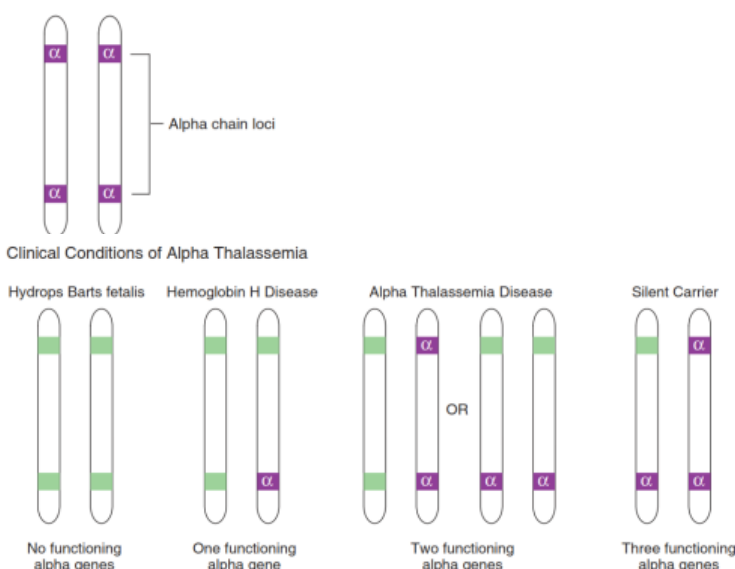
Sebagian besar bayi yang lahir dengan talasemia mayor tidak akan sakit selama 6 bulan pertama. Karena hemoglobin janin adalah hemoglobin mayoritas saat lahir, bayi melakukannya dengan cukup baik. Tetapi, dalam urutan kejadian normal, rantai gamma ditutup dan rantai beta meningkat, membentuk hemoglobin A di suatu tempat antara 3 dan 6 bulan. Karena tidak ada rantai beta untuk bergabung dengan rantai alfa, hemoglobin F terus dibuat, tapi ada ketidakseimbangan rantai alfa. Ketika rantai alfa tidak dapat bergabung, mereka tidak berpasangan dan mengendap di dalam sel darah merah, menyebabkan rentang hidup yang sangat menurun (7-22 hari). Pada usia antara 2-4 tahun, sebagian besar anak-anak dengan beta thalassemia mayor mulai menunjukkan kegagalan untuk berkembang, iritabilitas, pembesaran limpa, gejala anemia, penyakit kuning, dan kebutuhan transfusi.

### **Diagnosis dan Pengobatan Talasemia**

Pada pasien yang dicurigai mengalami talasemia alfa yang paling parah, terutama pada kehamilan, maka perlu dilakukan pengambilan sampel cairan amniosentesis atau vili kronis untuk pemeriksaan keberadaan gen alfa melalui prosedur diagnostik molekuler. Pada kasus hidrops Barts fetalis, sebagian besar kehamilan ini dihentikan atau pasien melahirkan janin dengan edema berat yang tidak dapat bertahan hidup. Darah tali pusat biasanya diuji untuk elektroforesis hemoglobin, yang biasanya menunjukkan persentase tinggi hemoglobin Barts.

Pada pasien dalam kelompok etnis yang berisiko tinggi, konseling genetik sangat disarankan. Hemoglobin H dapat dicurigai jika darah lengkap menunjukkan sedikit peningkatan jumlah eritrosit yang dikombinasikan dengan MCV yang sangat rendah, kurang dari 60 fL, dan hasil RDW yang sangat tinggi (nilai normal, 11-15%) menunjukkan *misshapened* dan fragmen-fragmen eritrosit dibandingkan dengan hipokromik mikrositik yang lebih homogen seperti pada anemia defisiensi besi. Meskipun hemoglobin H mungkin ada pada 5-40%, kegagalan untuk menunjukkan pita hemoglobin yang abnormal dengan elektroforesis tidak boleh menghilangkan pasien sebagai *suspect*. Hemoglobin H, hemoglobin yang bergerak cepat pada elektroforesis alkali, mungkin terlewatkan dengan metode tradisional. Dua kondisi terakhir yaitu talasemia alfa trait dan kondisi *silent carrier* mungkin tidak dikenali pada evaluasi HDT karena gambaran hematologisnya tidak begitu abnormal.

Normal chromosome 16



**Gambar 3.3** Keadaan Klinis Thalasemia Alfa (Ciesla, 2007)**Thalasemia Intermedia**

Penderita thalasemia intermedia bukan bagian yang baik dari penderita thalasemia mayor. Pada kelompok ini secara klinis terjadi komplikasi penyakit di kemudian hari daripada pasien thalasemia mayor dan kemungkinan tidak memerlukan transfusi. Pasien mengalami pembesaran limpa, tetapi persyaratan transfusi lebih jarang, serta mungkin terjadi perubahan tulang ringan. Pasien thalasemia intermedia memerlukan terapi Desferal untuk menghilangkan kelebihan kadar zat besi dalam tubuhnya, namun ini jauh lebih jarang daripada pasien thalasemia mayor.

Sifat thalasemia beta adalah kondisi heterozigot, di mana hanya satu gen beta abnormal yang diturunkan dari orangtuanya. Kondisi ini mirip anemia defisiensi besi (ADB) dengan pasien yang mengalami mikrositik hipokromik dengan kadar hemoglobin dan hematokrit yang cukup rendah. Hemoglobin A<sub>2</sub> akan meningkat menjadi sekitar 5-10%, tetapi pemeriksaan darah lengkap yang teliti akan menunjukkan peningkatan jumlah eritrosit. Di atas semua nilai lain, pada kasus ini terjadi peningkatan eritrosit secara signifikan karena ini menunjukkan bahwa sumsum tulang mengkompensasi hanya memiliki satu setengah komplemen rantai beta. Perubahan ini seringkali tidak dikenali, sehingga banyak pasien beta thalasemia minor menggunakan terapi besi yang merupakan terapi tidak tepat karena zat besi bukan masalah pada beta thalasemia minor.

**3.5 Hereditary Hemochromatosis**

Hereditary hemochromatosis (HH) merupakan salah satu kelainan genetik yang umumnya terjadi pada orang keturunan Eropa dan mayor *inherited* anemia sideroblastik. Lebih dari satu juta penderita ditemukan di Amerika Serikat. Resiko tinggi di Kaukasia, Afrika-Amerika, dan Spanyol. Namun kelainan ini relatif kurang dikenal daripada kelainan darah lainnya, hal ini karena hampir selalu merupakan diagnosis eksklusif.

HH adalah gangguan resesif autosomal yang dilakukan pada kromosom 6 yang terkait erat dengan HLA-A3. Ini dapat diturunkan secara homozigot atau heterozigot, dengan homozigot lebih rentan terhadap kelebihan zat besi. Namun, 10% heterozigot juga akan menunjukkan tanda-tanda produksi zat besi yang berlebihan. Sebagian besar pasien didiagnosis secara tidak sengaja, sebagai hasil skrining darah untuk masalah yang sama sekali tidak terkait. Pada pasien terjadi proses penyerapan dan penyimpanan zat besi menjadi tidak seimbang karena pewarisan gen abnormal, HFE, gen yang mengatur jumlah zat besi yang diserap dari makanan. Dua mutasi, C282Y dan H63D. Peran lengkap dari variasi-variasi mutan dalam gen HFE ini tidak sepenuhnya dipahami, namun diketahui bahwa produk normal dari gen-gen ini tidak mengikat reseptor transferin dalam proses pengiriman besi normal. Sebagai hasil dari mekanisme yang salah ini, zat besi secara konstan dimuat ke dalam lokasi penyimpanan dan menyebabkan gejala dan kerusakan multiorgan selama bertahun-tahun.

**Gejala dan Diagnosis Laboratorium Hereditary Hemochromatosis**

Hereditary hemochromatosis memiliki beberapa gejala yang tidak mengarah pada diagnosis langsung. Beberapa gejala umumnya antara lain:

- Kelelahan dan kelemahan kronis
- Sirosis hati
- Hyperpigmentasi
- Diabetes
- Impotensi
- Kemandulan
- Aritmia jantung
- Sendi yang bengkak



- Rambut rontok
- Gejala penyakit abdominal

Masing-masing gejalanya dapat mengarah ke kelainan selain HH, namun ketika gejala ini dikombinasikan dengan proses mikrositik, *screening* untuk status zat besi akan memberikan informasi yang relevan. Seperti yang telah ditunjukkan, *screening* untuk status zat besi, yaitu:

- Besi serum
- kadar transferin serum
- TIBC
- Kemungkinan saturasi transferin

Pada pasien HH, serum besi, serum ferritin, dan saturasi transferin akan meningkat, sedangkan TIBC dan transferin berada dalam *range* normal. Gejala mungkin tidak terlihat dan kadar darah mungkin tidak meningkat pada pasien yang lebih muda. Kadar ferritin serum di atas 150 µg/L dan tingkat saturasi transferin lebih dari 45% merupakan indikasi HH. Pengujian genetik akan sesuai bagi pasien untuk menentukan apakah mereka memiliki mutasi G282Y dan H63D yang terjadi pada 80-95% pasien dengan HH.

### **Pengobatan untuk Hereditary Hemochromatosis**

Penyakit hereditary hemochromatosis yang tidak memperoleh pengobatan dapat berakibat fatal, adanya kelebihan zat besi yang berlanjut sering menyebabkan kanker hati. Pengobatan pada pasien HH adalah *aggressive therapeutic phlebotomy*, atau *bloodletting*. Tujuan dari terapi ini adalah untuk mengurangi kadar ferritin serum menjadi kurang dari 10 µg/dL dan untuk menjaga hematokrit pasien sekitar 35%. Bagi sebagian besar pasien, akan ada satu atau dua proses mengeluarkan darah dilakukan per minggu selama pasien dapat mentoleransi prosedur. Setelah ferritin serum pasien telah kembali ke mendekati normal, flebotomi akan terjadi tiga atau empat kali setahun untuk menjaga ferritin serum dalam range normal.

**Tabel 3.3** Perbedaan Diagnosis Kelainan Mikrositik

<b>Diagnosis</b>	<b>Besi serum</b>	<b>TIBC</b>	<b>% Saturasi</b>	<b>Ferritin</b>
Anemia defisiensi besi	↓	↑	↓	↓
Anemia pada penyakit kronik/ inflamasi	↓	↓	↓	↑
Anemia sideroblastik	↑	↓	↑	↑
Thalasemia minor	↑/N	N	↑	↑
Hereditary hemochromatosis	↑	↓	↑	↑

(Ciesla, 2007)

Gejala akan berkurang dan hilang sepenuhnya dalam beberapa kasus setelah tingkat zat besi berkurang. Kelebihan zat besi akan menurunkan sistem kekebalan tubuh, dan menyebabkan sejumlah besar diabetes. Untuk pasien yang tidak dapat mentoleransi flebotomi atau tidak mau menjalani prosedur, desferrioxamine (Desferal), zat pengkkelat besi, dapat digunakan. Dalam prosedur ini, dosis Desferal yang disesuaikan dengan berat badan diberikan melalui *infuse pump* 12-16 jam terus menerus. Kelebihan zat besi diikat dan kemudian diekskresikan dalam urin. Daerah infus perlu diputar sering untuk menghindari infeksi dan iritasi. Pasien yang tidak patuh dalam melakukan pengobatan dapat mempersingkat rentang hidup mereka. Diagnosis dini gangguan HH dapat dengan mudah



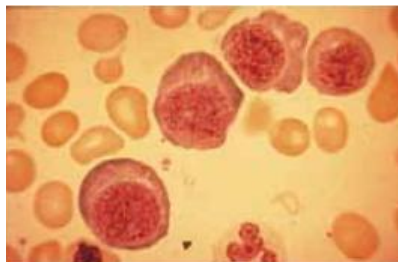
dicapai dengan menambahkan tes darah seperti serum ferritin dan saturasi transferrin ke menu tes yang ditawarkan selama pemeriksaan fisik tahunan.

## B. ANEMIA MAKROSITIK

Anemia makrositik merupakan klasifikasi morfologis anemia yang memiliki MCV lebih dari 100 fL, MCH meningkat, namun MCHC berada dalam range normal. Anemia ini disebut makrositik/ normokromik. Anemia makrositik dibagi menjadi dua kategori, yaitu proses megaloblastik dan nonmegaloblastik. Jika penyebab anemia karena defisiensi vitamin B atau asam folat maka disebut anemia megaloblastik. Tetapi jika sumber anemia tidak berhubungan dengan kekurangan gizi maka disebut anemia makrositik tetapi tidak megaloblastik. Kekurangan vitamin B<sub>12</sub> atau asam folat menyebabkan gangguan sintesis DNA, suatu kondisi serius, dan akan memengaruhi semua sel yang siap membelah diri, sel kulit, sel hematopoietik, dan sel epitel, serta menimbulkan efek pada sumsum tulang, hapusan darah tepi, dan menyebabkan kualitas hidup pasien sangat dramatis dan substansial.

### 3.6 Anemia Megaloblastik

Proses megaloblastik dapat merusak sintesis DNA, sehingga akan berpengaruh terhadap sel berinti. Terjadi beberapa perubahan struktur eritrosit dan leukosit dalam sumsum tulang yang harus diketahui. Prekursor sel darah merah megaloblastik lebih besar, struktur nuklear kurang terkondensasi, dan sitoplasma sangat basofilik atau berwarna jauh lebih biru (Gambar 3.4). Ada ketidaksesuaian antara usia material inti sel dan usia sitoplasma. Ketika tahapan sel tidak sesuai, maka harus diperhatikan bahwa seri eritrosit normal diprogram untuk dua fungsi spesifik, yaitu sintesis hemoglobin dan pengeluaran inti sel. Agar inti sel dikeluarkan maka harus terjadi perubahan dalam ukuran inti dan konsistensi struktur inti. Oleh karena itu, kromatin diawali dengan baik, retikuler, dan halus harus memiliki tekstur dan konformasi yang berbeda sebelum dikeluarkan dari normoblas ortokromik. Dalam eritropoiesis megaloblastik, tekstur dan kondensasi material inti terganggu. Material inti (atau kromatin) rapuh dan tidak memiliki komposisi dan kondensasi dari inti yang siap dikirim dari sel. Demikian juga, material sitoplasma dalam prekursor megaloblastik awal sangat basofilik, jauh lebih biru dari prekursor normal.



**Gambar 3.4** Prekursor megaloblastik menunjukkan nukleus dan kromatin asinkron (Ciesla, 2007)

#### Peran Vitamin B<sub>12</sub> Dan Asam Folat Dalam Sintesis DNA

Sintesis DNA tergantung pada struktur kunci, timidin trifosfat (TTP). Struktur ini tidak dapat dibentuk kecuali menerima gugus metil dari metil tetrahidrofolat atau asam folat. Vitamin B<sub>12</sub> adalah kofaktor yang bertanggung jawab untuk mentransfer gugus metil ke metil tetrahidrofolat. Jumlah vitamin B<sub>12</sub> yang cukup dan asam folat adalah kunci pembentukan TTP. Jika TTP tidak dapat disintesis, maka digantikan oleh deoxyuridine triphosphate (DTP). Sintesis komponen ini mengarah pada fragmentasi nuklear dan penghancuran sel serta gangguan pembelahan sel. Oleh karena itu, vitamin B dan asam folat merupakan elemen penting dalam jalur DNA.

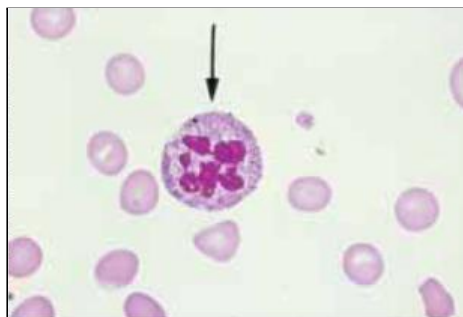
Mikroorganisme dan jamur merupakan produsen utama vitamin B<sub>12</sub>, yaitu kelompok vitamin yang dikenal sebagai kobalamin. Vitamin ini juga terdapat dalam hati, daging, ikan, telur, dan produk susu. Kebutuhan harian vitamin B<sub>12</sub> yang direkomendasikan adalah 2,0 µg/hari dengan diet harian menyediakan sekitar 5 hingga 30 µg/hari dan penyimpanan 1 hingga 2 mg di hati. Kebutuhan

makanan akan meningkat selama kehamilan dan laktasi. Asam folat terdapat dalam sayuran berwarna hijau, buah, brokoli, dan produk susu dengan kebutuhan harian minimum adalah 200 µg/hari. Kebutuhan asam folat jauh lebih tinggi daripada vitamin B<sub>12</sub>, dengan cadangan tubuh 5-10 mg. Di hati, asam folat cepat habis dalam hitungan bulan karena kebutuhan harian jauh lebih tinggi. Wanita hamil dianjurkan untuk meningkatkan asupan asam folat karena kekurangan asam folat dapat menyebabkan *neural tube defect* (NTD), yaitu cacat bawaan yang timbul akibat tidak sempurnanya penutupan *neural tube* (tabung saraf) selama pertumbuhan embrional.

### **Gejala Klinis Pasien Anemia Megaloblastik**

Anemia megaloblastik biasanya merupakan penyakit usia menengah ke atas dengan predileksi tinggi pada wanita. Anemia berat, di mana hemoglobin turun menjadi 7-8 g/dL, disertai dengan gejala anemia, seperti sesak napas, pusing, kelemahan ekstrem, dan pucat. Pasien dapat mengalami glositis (peradangan pada lidah) atau lidah membesar, pencernaan yang terganggu, atau diare. Selain itu juga dapat menyerang sistem neurologis, yaitu pasien mengalami mati rasa, parestesia atau kesemutan, kesulitan dalam keseimbangan dan berjalan, dan perubahan kepribadian menyebabkan demielinasi saraf perifer, tulang belakang, dan otak, yang dapat menyebabkan banyak gejala neurologis yang lebih parah, seperti *spasticity* atau *paranoia*. Pasien juga mengalami ikterus, karena rentang hidup eritrosit rata-rata pada anemia megaloblastik adalah 75 hari, padahal keadaan normal rata-rata rentang eritrosit 120 hari. Tingkat bilirubin meningkat, dan tingkat laktat dehidrogenase (LDH) tinggi, yang menandakan adanya hemolisis.

Pada pemeriksaan darah lengkap (DL) menunjukkan pansitopenia (jumlah eritrosit, leukosit, dan trombosit rendah). Pansitopenia pada pemeriksaan DL disertai keadaan makrositosis dapat meningkatkan kecurigaan terjadinya proses megaloblastik karena kondisi lainnya, seperti anemia aplastik dan hipersplenisme. Badan inklusi eritrosit seperti *basofilik stippling* dan *Howell-Jolly bodies* dapat diamati. *Howell-Jolly bodies* yang terbentuk dari eritropoiesis megaloblastik lebih besar dan lebih terfragmentasi dalam penampilan daripada *Howell-Jolly bodies* yang normal. Jumlah retikulosit rendah (kurang dari 1%) dan RDW meningkat karena adanya *schistocytes*, sel-sel target, dan *tear drop cells*. Hapusan darah pada anemia megaloblastik sangat relevan dalam diagnosis dan menunjukkan makrosit, makro-ovalosit, neutrofil multilobus hipersegmentasi (Gambar 3.5), dan polikromasia kecil terkait dengan anemia. Adanya neutrofil hipersegmented (jumlah lobus lebih dari lima lobus) dalam kombinasi dengan anemia makrositik adalah penanda morfologis untuk anemia megaloblastik. MCV awalnya sangat tinggi dan mungkin berada di kisaran 100 hingga 140 fL. Pemeriksaan sumsum tulang tidak diperlukan untuk diagnosis anemia megaloblastik, karena diagnosis gangguan ini dapat dilakukan secara adekuat tanpa prosedur yang memakan waktu, mahal, dan invasif.



**Gambar 3.5** Sel *hypersegmented* neutrofil dan makro-ovalosit pada hapusan darah pasien anemia megaloblastik (Ciesla, 2007)

### **3.7 Anemia Pernisiosa**

Faktor intrinsik merupakan unsur yang paling penting untuk absorpsi vitamin B<sub>12</sub> dan selanjutnya masuk ke dalam sirkulasi. Ketika masalah dengan faktor intrinsik berkembang, kondisi ini disebut anemia pernisiiosa. Beberapa faktor dapat menjelaskan kurangnya faktor intrinsik dalam perut, termasuk faktor fisik seperti parsial atau lengkap (full) gastrektomi, atau faktor genetik dan imun. Gastritis atrofi disebabkan oleh berkurangnya sekresi lambung sehingga faktor intrinsik gagal disekresikan. Alasan untuk ini masih belum jelas tetapi dapat dipengaruhi oleh usia. Faktor imun mungkin muncul menyebabkan antibodi diproduksi terhadap faktor intrinsik, jaringan tiroid, dan sel parietal, yang semuanya akan mengurangi produksi melawan faktor intrinsik, jaringan tiroid, dan sel parietal, yang semuanya akan menurunkan faktor intrinsik. Antibodi dengan faktor intrinsik

**Tabel 3.4** Respon Sumsum Tulang untuk Stress Anemia

**Produksi sel prekursor eritrosit dipercepat**

Rasio Leukosit : Eritrosit disesuaikan untuk mencerminkan hiperplasia eritroid.

Sel prekursor, normoblas ortokromik (*nucleated red blood cell*), dikeluarkan dari sumsum tulang secara prematur.

Retikulosit dikeluarkan secara prematur dari sumsum tulang

Ditemukan polikromasia pada hapusan darah tepi.

Ditemukan normoblast ortokromik pada hapusan darah tepi.

Jika jumlah retikulosit meningkat, maka sedikit makrositosis yang mungkin berkembang.

(Ciesla, 2007)

ditemukan pada 56% pasien anemia pernisiiosa, dengan 90% pasien menunjukkan antibodi sel parietal, ini menunjukkan komponen autoimun yang kuat pada gangguan ini. Selain itu, ada frekuensi yang lebih tinggi dari anemia pernisiiosa pada penderita diabetes, kondisi tiroid, dan proses autoimun lainnya. Anemia pernisiiosa dapat terjadi secara genetik sebagai sifat autosomal resesif pada anak-anak sebelumnya usia 2 tahun. Cubilin, reseptor untuk vitamin B<sub>12</sub> dan faktor intrinsik, telah diketahui sejak tahun 1998, tetapi perannya dalam anemia pernisiiosa juvenile-onset sedang diteliti. Keadaan dewasa anemia kongenital bawaan dapat terjadi dan berhubungan dengan achlorhydria atau malabsorpsi dalam keluarga.

Anemia pernisiiosa lebih sering terjadi pada etnis Irlandia dan Skandinavia. Penderita anemia pernisiiosa akan mengalami semua gejala penderita anemia megaloblastik, namun mereka memiliki kecenderungan lebih tinggi menyerang syaraf termasuk degenerasi saraf perifer dan tulang belakang. Neurologis gejala mungkin lambat untuk berkembang tetapi termasuk luas berbagai gejala. Pasien mungkin mengalaminya parestesia pada tungkai, berjalan tidak normal atau canggung atau kekakuan pada anggota badan.

**Diagnosa Laboratorium Anemia Megaloblastik**

Anemia megaloblastik menunjukkan similaritas yang tinggi pada hasil klinis dan hematologis. Diagnosa laboratorium anemia megaloblastik, antara lain:

- Pansitopenia
- MCV dan MCHC meningkat
- Hipersegmentasi neutrofil (lima lobus atau lebih)
- Bilirubin meningkat
- LDH meningkat
- Hiperplasia di sumsum tulang
- Penurunan rasio Leukosit : Eritrosit
- Retikulositopenia

Diagnosis banding pada kelainan ini tergantung pada tes laboratorium yang dilakukan untuk menentukan apakah pasien kekurangan vitamin B, asam folat, atau faktor intrinsik. Beberapa tes digunakan untuk membedakan penyebab anemia ini, seperti: serum B<sub>12</sub>, asam folat, atau penentuan folat eritrosit oleh radioimmunoassay, analisis lambung untuk menentukan achlorhydria (berkurangnya produksi asam lambung), atau tes untuk menunjukkan faktor intrinsik atau antibodi sel parietal yang dilakukan oleh *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Antibodi sel parietal ditemukan pada 90% individu pada saat diagnosis awal, walaupun keberadaan antibodi ini tidak spesifik untuk diagnosis anemia pernisiiosa, karena antibodi sel parietal terlihat pada beberapa individu dengan gangguan endokrin. Evaluasi antibodi faktor intrinsik berbiaya efektif, andal, dan sangat spesifik untuk diagnosis anemia pernisiiosa. Ada dua klasifikasi antibodi intrinsik: antibodi *blocking* dan antibodi *binding*. Antibodi *blocking* berfungsi menghambat pengikatan vitamin B ke faktor intrinsik, sedangkan antibodi *binding* mencegah keterikatan faktor intrinsik – B<sub>12</sub> kompleks pada reseptor di usus halus. Tes radioimmunoassay dapat menggambarkan sifat antibodi faktor intrinsik. Prosedur rujukan untuk penentuan anemia pernisiiosa dapat menggunakan tes Schilling, yang mengukur penyerapan vitamin B dalam usus.

### **Pengobatan Anemia Megaloblastik**

Vitamin B terapi tersedia dalam bentuk cyanocobalamin atau hydroxycobalamin. Vitamin dapat diberikan secara oral, intramuskuler, atau subkutan. Jika seorang pasien hanya kekurangan vitamin B<sub>12</sub>, vitamin ini dapat dikonsumsi secara oral dengan dosis harian 1000 µg. Sianokobalamin oral lebih hemat daripada suntikan vitamin B<sub>12</sub> intramuskular. Terapi seumur hidup.

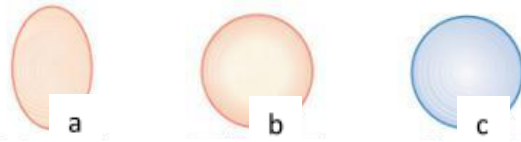
Untuk pasien dengan anemia pernisiiosa, perlu diberikan sekitar 6000 µg vitamin B<sub>12</sub> selama 6 hari sebagai dosis awal. Apabila terapi berhasil maka gejala pasien akan mulai berkurang, dan respons retikulosit yang cepat akan dimulai dalam 2-3 hari. Terapi *maintenance* vitamin B<sub>12</sub> perlu diberikan setiap 1-2 bulan seumur hidup, dan pasien harus dimonitor dengan tes hematologi.

Defisiensi asam folat cukup mudah diobati dengan folat oral pada 1-5 mg/hari selama 2-3 minggu. Terapi jangka pendek biasanya diperlukan, dan pasien disarankan untuk meningkatkan asupan asam folat dalam makanan mereka.

### **3.8 Anemia Makrositik Bukan Megaloblastik**

Ketika makrosit tampak pada hapusan darah tepi maka penting untuk mengamati bentuk, warna, atau hipokromia, karena petunjuk morfologis ini dapat membantu menentukan apakah makrositosis adalah megaloblastik atau nonmegaloblastik. Makrosit megaloblastik berukuran besar dan oval, dengan membran luar lebih tebal dan kurang hipokromia. Makrosit pada hapusan darah tepi yang tidak memiliki karakteristik ini umumnya bukan berasal dari megaloblastik. Beberapa keadaan dapat mempengaruhi gambaran darah makrositik tanpa defisiensi vitamin B<sub>12</sub> dan asam folat. Keadaan yang paling sering terlihat adalah respon sumsum tulang terhadap anemia hemolitik, yaitu akan tampak adanya retikulositosis. Hal ini karena retikulosit merupakan makrosit polikromatofilik dan karena retikulosit akan dikirim *prematurely* dari sumsum tulang sebagai respons terhadap hemolisis. Pada kasus ini, MCV hanya sedikit lebih tinggi, sampai dengan 105 fL.

Makrositosis juga dapat dilihat pada keadaan hipotiroidisme, penyakit hati kronis, alkoholisme, terapi kemoterapi, atau *myelodysplastic disorder*. Terkadang pada pasien penyakit hati kronis dan alkoholisme juga ditemukan makrosit hipokromik bulat. Selain itu, makrositik juga terdapat pada bayi baru lahir karena sumsum tulang mereka immatur dan mengirimkan secara cepat sel berinti dan retikulosit (Gambar 3.6).



**Gambar 3.6** Jenis morfologi makrosit dipengaruhi oleh berbagai kondisi klinis: (a) oval makrosit, (b) makrosit hipokromik bulat, (c) makrosit berwarna kebiruan (Ciesla, 2007)

### C. ANEMIA NORMOSITIK

#### Peran Limpa Dalam Kelainan Membran Eritrosit

Limpa berperan vital dalam rentang umur eritrosit. Karena 5% dari output jantung per menit disaring melalui limpa, limpa berperan untuk mensurvei eritrosit yang tidak sempurna. Hanya eritrosit yang dianggap sempurna (tidak cacat) yang melanjutkan perjalanannya ke sirkulasi darah. Eritrosit yang tidak sempurna dapat berupa badan inklusi, produk hemoglobin abnormal, parasit ke produk hemoglobin abnormal, dan membran abnormal. Inklusi dapat dihilangkan dari sel, meninggalkan membran utuh dan membiarkan eritrosit melewati sisa sirkulasi tanpa cedera. Namun jika eritrosit memiliki hemoglobin abnormal (contohnya pada thalasemia) atau komponen membran abnormal, maka elastisitas dan deformabilitas eritrosit akan terganggu dan dapat terjadi hemolisis. Selain itu juga terjadi pada eliptositosis herediter, ovalositosis asian southeast, pyropoikilositosis herediter, dan xerositosis herediter.

#### 3.9 Sferositosis Herediter

Sferositosis herediter merupakan kelainan yang sering terjadi di Eropa utara dengan kasus mencapai 1:5000. Kelainan ini diturunkan pada 75% individu autosomal dominan, sedangkan 25% lainnya secara autosomal resesif. Kerusakan pada kelainan ini disebabkan karena defisiensi *key membrane protein*, spektrin, dan, pada tingkat lebih rendah, defisiensi protein membran ankyrin dan protein membran minor band 3 dan protein 4.2. Kelainan membran eritrosit pada sferositosis herediter dapat disebabkan oleh lima mutasi gen, yaitu: ANK1 (ankyrin), SPTB (spektrin, rantai beta), SLC4A1 (band 3), EPB42 (protein 4.2), dan SPTA1 (spektrin, rantai alfa). Spectrin dan ankyrin adalah bagian dari protein matriks sitoskeletal yang mendukung lapisan lipid bilayer dari eritrosit. Protein-protein ini bertanggung jawab atas elastisitas dan deformabilitas eritrosit, sifat-sifat penting, karena eritrosit berdiameter sekitar 6-8  $\mu\text{m}$  harus melewati sirkulasi darah dengan diameter yang jauh lebih kecil.

Hasil diagnosis laboratorium pada pasien sferositosis herediter terjadi peningkatan MCHC, RDW, dan adanya sferosit. Karena gambaran hasil laboratorium klinis yang masih bersifat umum, perlu dilakukan pengujian laboratorium tambahan, yaitu tes fragilitas osmotik yang diinkubasi dan tidak diinkubasi. Tes ini untuk mengkonfirmasi diagnosis sferositosis herediter. Eritrosit pasien ditambahkan berbagai larutan NaCl, mulai dari saline isotonik (0,85% NaCl) hingga aquadest (0,0% NaCl). Dalam kondisi isotonik, sel-sel merah normal mencapai keseimbangan dan memiliki sedikit hemolisis. Sebagai solusi menjadi lebih hipotonik (lebih sedikit NaCl dan lebih banyak aquadest), hemolisis terjadi dan diamati pada penampilan awal hemolisis dan setelah hemolisis lengkap. Tingkat hemolisis lengkap biasanya merupakan satu-satunya data yang dilaporkan pada sampel pasien. Pada eritrosit normal awalnya terjadi hemolisis pada 0,45% NaCl. Sel darah merah dari pasien dengan HS memiliki penurunan rasio permukaan terhadap volume dan peningkatan kerapuhan osmotik. Mereka kurang mampu mentolerir aliran air dan karenanya bergantung pada 0,65%. Peningkatan kurva fragilitas osmotik juga terjadi pada anemia hemolitik autoimun atau proses hemolitik *acquired*. Kondisi seperti talasemia dan anemia defisiensi besi akan menunjukkan penurunan fragilitas osmotik (hemolisis pada 0,20%).

### 3.10 Dehidrogenase Glucose-6-Phosphat (G6PD)

Ada sejumlah kelainan bawaan eritrosit yang berhubungan dengan defisiensi biokimia. Defisiensi Glukosa-6-fosfat dehidrogenase (G6PD) merupakan kelainan yang disebabkan oleh kesalahan (*misstep*) metabolisme. G6PD adalah katalisator pada tahap pertama dari bagian metabolisme oksidatif eritrosit pada jalur fosfoglukonat, yang berperan menjaga glutathione dalam keadaan tereduksi. Glutathione adalah antioksidan utama eritrosit dan berfungsi untuk melindungi eritrosit dari stres oksidatif karena penumpukan peroksida dan senyawa atau obat lain. Jalur untuk mengurangi glutathione dimulai ketika NADP (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) dikonversi menjadi NADPH oleh aksi G6PD, suatu enzim esensial dalam *heksosa monofosfat shunt*. Setelah ini terjadi, NADPH mengubah glutathione teroksidasi menjadi glutathione tereduksi dan eritrosit terlindungi.

Empat kondisi klinis yang berhubungan dengan defisiensi G6PD, antara lain:

1. Anemia hemolitik akut yang diinduksi oleh obat.

Obat-obatan yang dapat menyebabkan hemolisis pada pasien G6PD, yaitu aspirin, fenacetin, klorokuin, kloramfenikol, sulfacetamide, naftalena, dan vitamin K. Individu dengan G6PD secara hematologis normal dan tidak menyadari bahwa mereka memiliki varian genotipe G6PD. Dalam proses diinduksi obat atau proses hemolitik yang diinduksi infeksi, pasien mengalami mual, sakit perut, dan penurunan hematokrit dengan cepat dalam periode 24-48 jam. Tingkat hemolisis mengkhawatirkan karena kadar hemoglobin dan hematokrit turun dengan cepat dan lisis intravaskular bermanifestasi sebagai hemoglobinuria di mana urin berwarna kecoklatan atau seperti teh kental. LDH dan retikulosit meningkat, terjadi anemia normokromik normositik, dan sumsum tulang menunjukkan hiperplasia eritroid. Pada hapusan darah tepi menunjukkan polikromasia yang ditandai dan beberapa *bite cell*, serta Heinz bodies. Heinz bodies terbentuk dari hemoglobin terdenaturasi yang terjadi pada individu yang mengalami defisiensi G6PD saat terpapar agen pengoksidasi, karena kurangnya enzim G6PD menyebabkan eritrosit mengalami destruksi oksidatif.

2. Favisme

Merupakan kondisi klinis paling parah kedua akibat G6PD. Favisme umumnya ditemukan pada individu G6PD jenis Mediterania atau Kanton. Satu jam setelah mengonsumsi *fava beans* muda atau kacang buncis, biasanya individu menjadi lesu dan mudah marah serta diikuti demam, mual, sakit perut. Dalam 48 jam akan terjadi hemoglobinuria berat. Pada hapusan darah tepi mungkin ditemukan Heinz bodies, normokromik normositik dengan polikromasia, penurunan haptoglobin, dan peningkatan bilirubin.

3. Neonatal jaundice

Neonatal jaundice berhubungan dengan defisiensi G6PD yang terjadi dalam 2-3 hari setelah kelahiran. Berbeda dengan penyakit hemolitik pada bayi baru lahir, pasien dengan neonatal jaundice menunjukkan lebih banyak ikterus daripada anemia. Pengenalan dan manajemen dini peningkatan bilirubin sangat penting untuk mencegah komplikasi neurologis (seperti kernikterus) pada bayi ini. Berdasarkan data, kejadian neonatal jaundice cukup sering terjadi di Malaysia, Mediterania, HongKong, dan Thailand. Pengobatan yang perlu dilakukan berupa fototerapi (terapi cahaya intens) dan transfusi.

4. Anemia hemolitik nonspherocytic kongenital

Kondisi klinis terakhir adalah anemia hemolitik nonspherocytic kongenital. Pasien dengan kondisi memiliki riwayat neonatal jaundice yang kompleks oleh batu empedu, pembesaran limpa, atau keduanya. Anemia yang terjadi tergantung pada tingkat keparahan dan transfusi yang diperlukan.



Splenektomi dapat dilakukan pada kasus ini. Gambaran klinis menunjukkan hemolisis kronis, terutama ekstravaskular, hiperbilirubinemia, penurunan haptoglobin, dan peningkatan retikulosit.

Deteksi defisiensi G6PD memiliki beberapa kendala karena banyaknya varian genetik, kelainan heterozigositas, dan kadar enzim eritrosit muda yang menunjukkan peningkatan berdasarkan usia. Waktu pengujian yang tepat sangat penting untuk hasil yang akurat. Jika diagnosis defisiensi G6PD dilakukan selama masa hemolitik akut, retikulosit akan mengalir dari sumsum tulang ke sirkulasi perifer. Oleh karena itu, pemeriksaan harus dilakukan setelah masa hemolitik telah selesai dan jumlahnya telah kembali normal. Uji enzim untuk eritrosit yang lebih tua direkomendasikan. Seluruh prosedur, termasuk presentasi klinis, DL, hapusan darah tepi, dan status enzim, harus dianalisis sebelum diagnosis dibuat.

### 3.11 Defisiensi Piruvat Kinase

Defisiensi piruvat kinase merupakan kelainan enzim langka pada jalur Embden-Meyerhof. Eritrosit yang kekurangan enzim ini tidak dapat menghasilkan adenosin trifosfat (ATP) dari adenosin difosfat (ADP) untuk fungsi membran eritrosit sehingga sel-sel kaku dan tidak fleksibel yang diasingkan oleh limpa dan hemolisis. Pria maupun wanita dapat mengalami kelainan resesif autosom ini. Pasien menunjukkan hemolisis moderat dengan hematokrit sekitar 18-36%, dengan sedikit morfologi abnormal pada hapusan darah tepi, kecuali polikromasia dan beberapa normoblas ortokromik-berinti. Tes skrining dapat dilakukan dengan fluoresen diikuti dengan uji spesifik untuk aktivitas enzim piruvat kinase.

### 3.12 Anemia Aplastik

Anemia aplastik merupakan salah satu kelompok kelainan hipoproliferatif di mana terjadi penipisan sel dan berkurangnya produksi semua sel darah (pansitopenia). Sindrom ini biasanya idiopatik namun kemungkinan merupakan hasil dari dua mekanisme, yaitu antibodi yang diarahkan terhadap antigen pada stem sel atau peran mekanisme sistem imun, di mana limfosit T menekan proliferasi stem sel. Beberapa keadaan yang menyebabkan terjadinya anemia aplastik, antara lain: radiasi, kemoterapi atau bahan kimia, benzene (baik secara langsung maupun tidak langsung), virus (terutama Epstein-Barr dan hepatitis B dan C).

Karakteristik klinis dari sindrom ini termasuk penurunan seluleritas sumsum tulang, pansitopenia, dan retikulositopenia. Anemia aplastik merupakan suatu proses berbahaya, sindrom ini berkembang secara lambat namun teratur dengan gejala yang merefleksikan elemen seluler yang tertekan. Ketika eritrosit secara signifikan *deplete* (kosong), pasien akan menunjukkan kelelahan, jantung berdebar, dan dispnea. Ketika trombosit *deplete*, terjadi ekimosis dan perdarahan mukosa serta penurunan jumlah leukosit menyebabkan infeksi. Pada beberapa kasus, hapusan darah tepi menunjukkan limfositosis. Pengobatan anemia normositik normokromik ini melalui transfusi dan steroid. Pada pasien anemia aplastik yang parah dapat dilakukan transplantasi stem sel.

## BAB 4

### KELAINAN MORFOLOGI LEUKOSIT

#### A. PENGANTAR KELAINAN LEUKOSIT

Leukosit memiliki rentang hidup singkat dalam sirkulasi darah perifer, sehingga sangat dipengaruhi oleh perubahan-perubahan dalam kuantitas maupun kualitas sel tertentu. Dengan range yang berbeda antara dewasa dan anak-anak dapat dijadikan sebagai patokan bahwa setiap kenaikan atau penurunan jenis sel tertentu menandakan respons unik tubuh terhadap "serangan" berupa infeksi, inflamasi, penyakit kronis, infestasi parasit, dan sebagainya. Sebagai respon leukosit terhadap infeksi atau rangsangan lain akan terlihat perubahan pada jumlah dan jenis sel tertentu. Adanya peningkatan sel ditunjukkan dengan akhiran "osis" atau "filia, seperti eosinofilia dan leukositosis. Sedangkan penurunan sel ditunjukkan akhiran "penia", seperti neutropenia. Perubahan jumlah leukosit dapat diamati melalui pemeriksaan darah lengkap (DL) dan hapusan darah tepi.

Setiap granula sel berperan dalam menghasilkan gejala tertentu, misalnya granula eosinofilik mengandung histamin. Pada pasien alergi, eosinofil akan meningkat. Histamin yang dilepaskan oleh eosinofil akan menstimulasi gejala yang berhubungan dengan alergi seperti mata berair, mata gatal dan *rhinorrhea*. Menariknya, kebanyakan alergi obat mengandung antihistamin, diformulasikan untuk memblokir gejala alergi. Pada banyak kasus, pasien yang memiliki infeksi baru akan menunjukkan peningkatan leukosit. Gejala yang dikombinasikan dengan peningkatan jumlah leukosit dapat merefleksikan proses infeksi.

#### B. PERUBAHAN KUANTITATIF LEUKOSIT

Berbagai kondisi menimbulkan kenaikan atau penurunan sel tertentu. Kondisi-kondisi ini biasanya bersifat sementara, dan setelah kondisi yang mendasarinya terselesaikan maka sebagian besar jumlahnya akan kembali normal. Keadaan neutropenia (jumlah neutrofil absolut kurang dari  $2,0 \times 10^9/L$ ) dapat disebabkan karena obat-obatan, kelainan sumsum tulang akibat bahan kimia, infeksi virus, dan sekuestrasi limpa. Sedangkan peningkatan neutrofil terjadi pada kasus infeksi, respon inflamatory, respon stress, dan malignansi (keganasan). Kondisi yang menyebabkan peningkatan eosinofil, yaitu penyakit kulit, penyakit parasit, penolakan transplantasi, kelainan mieloproliferatif. Peningkatan jumlah basofil terjadi pada kasus kelainan mieloproliferatif, reaksi hipersensitivitas, kolitis ulseratif (peradangan kronis yang terjadi pada usus besar atau kolon dan rektum). Kondisi dengan peningkatan monosit, antara lain: infeksi kronis seperti TB, malignansi (keganasan), leukemia dengan komponen monositik yang kuat, kegagalan sumsum tulang.

#### C. CACAT (*DEFECT*) KUALITATIF LEUKOSIT

Perubahan kualitatif leukosit terjadi di sitoplasma dan nukleus. Perubahan-perubahan ini diklasifikasikan sebagai *inherited* (diwariskan/ bawaan) atau *acquired* (didapat). *Acquired defect* tampak dengan frekuensi yang jauh lebih besar daripada kelainan bawaan. Pada pasien dengan perkembangan peningkatan jumlah leukosit, perubahan toksik leukosit umumnya terjadi karena stres selama maturasi dan sebagai akibat aktivitas dalam sirkulasi atau jaringan.

Respons leukosit terhadap infeksi atau inflamasi terjadi dalam dua jalur. Ketika leukosit meningkat, tampak peningkatan *segmented* neutrofil pada hapusan darah tepi yang menimbulkan neutrofilia atau *shift to the left*, yang banyak ditemukan sel-sel muda. Dalam beberapa kasus perubahan toksik, dapat ditemukan sel-sel seperti granulasi toksik, vakuolisasi toksik, dan Dohle bodies.



**Tabel 4.1** Istilah-Istilah Leukosit

Neutrophilia	Peningkatan neutrofil segmen
Leukocytosis	Peningkatan leukosit
Left shift	Peningkatan band dan metamyelosit pada hapusan darah tepi, terlihat sebagai respons terhadap infeksi
Leukemoid reaction	Respons berlebihan terhadap infeksi, dikarenakan peningkatan jumlah leukosit dan metamyelocytes, band, dan mungkin sel yang lebih muda
Leukoerythroblastic	Eritrosit dan leukosit imatur, dan trombosit abnormal pada hapusan darah tepi

(Ciesla, 2007)

**D. TAHAPAN FAGOSITOSIS LEUKOSIT**

Sel telah mengembangkan mekanisme untuk menelan partikel maupun cairan. Mekanisme ini melibatkan berbagai reseptor, seperti reseptor-*mediated endocytosis* (absorpsi partikel-partikel kecil ke dalam *clathrin coated vesicles*), hingga *pinocytosis* (penyerapan bahan terlarut), dan fagositosis. Fagositosis merupakan proses penting untuk nutrisi pada organisme uniseluler, sedangkan pada organisme multiseluler ditemukan pada sel khusus yang disebut fagosit. Fagositosis merupakan mekanisme yang melibatkan partikel yang relatif besar ( $> 0,5 \mu\text{m}$ ), seperti bakteri, sel-sel mati, maupun agen infeksius lainnya untuk dikenali dan dimusnahkan. Selama fagositosis di dalam sel-sel imun (neutrofil dan makrofag) reseptor di membran sel terlebih dahulu mengenali antibodi pada target, sehingga menyebabkan pseudopodia mengelilingi target dengan mekanisme *zipperlike*. Kemudian diikuti oleh fusi dengan lisosom, *acidification* fagosom, dan degradasi target. Secara umum mekanisme fagositosis meliputi: *chemotaxis*, *opsonization*, *ingestion*, dan *killing*

Fagositosis terdiri dari pengenalan dan menelan partikel yang lebih besar dari  $0,5 \mu\text{m}$  ke dalam *plasma membrane-derived vesicles*, yang dikenal sebagai fagosom. Fagosit dapat menelan mikroba patogen, tetapi penting juga sel-sel apoptosis. Dengan cara ini, fagosit berkontribusi untuk *clearance* (pembersihan) miliaran sel setiap hari. Dengan demikian fagositosis menjadi penting tidak hanya untuk eliminasi mikroba, tetapi juga untuk homeostasis jaringan. Fagosit profesional meliputi monosit, makrofag, neutrofil, sel dendritik, osteoclast, dan eosinofil. Sel ini bertugas menghilangkan mikroorganisme dan mempresentasikannya ke sel *adaptive immune system*. Selain itu, fibroblas, sel epitel, dan sel endotel juga dapat melakukan fagositosis. Fagosit nonprofesional ini tidak dapat menelan mikroorganisme tetapi penting dalam mengeliminasi badan apoptosis. Fagosit harus mengenali sejumlah besar perbedaan partikel yang berpotensi dicerna, termasuk segala macam patogen dan juga sel apoptosis. Pengenalan ini tercapai karena berbagai reseptor terpisah yang membedakan partikel sebagai target dan kemudian memulai pensinyalan cascade yang mempromosikan fagositosis. Reseptor pada plasma membran fagosit dapat dibagi menjadi nonopsonik dan reseptor opsonik. Reseptor nonopsonik dapat mengenali langsung gugus molekul pada permukaan fagositosis. Di antara reseptor ini ada molekul pengenalan seperti lektin, yaitu CD169 dan CD33.

**Tabel 4.2** Empat Tahapan Fagositosis

- |               |   |
|---------------|---|
| 1. Kemotaksis | Benda asing menyerang jaringan. Neutrofil yang biasanya bergerak secara acak melalui jaringan, tertarik langsung ke lokasi invasi melalui sinyal kimia yang dikirim oleh benda asing (bakteri). |
|---------------|---|

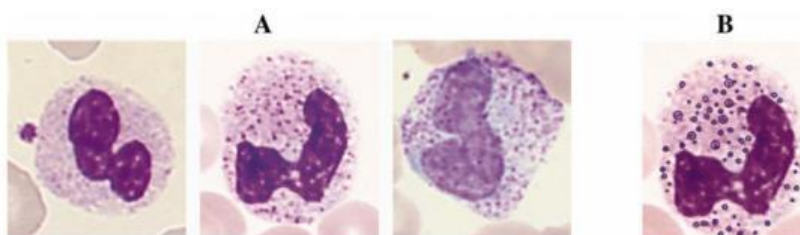
- |              |  |
|--------------|--|
|              | Lebih banyak neutrofil memobilisasi dan bergegas ke lokasi infeksi.  |
| 2. Oponisasi | Neutrofilik melekatkan dari benda asing yang bisa menyerang hanya terjadi setelah benda asing itu <i>opsonized</i> atau siap untuk dicerna melalui interaksi dengan sistem komplemen dan imunoglobulin lainnya.  |
| 3. Ingesti   | Benda asing yang telah dicerna oleh neutrofil. Benda asing ditelan oleh membran pseudopod neutrofilik.   |
| 4. Killing   | Granula neutrofilik mengeluarkan isinya, yang berisi berbagai macam elemen <i>lytic</i> . pH sel berkurang dan hidrogen peroksida diproduksi oleh neutrofil sebagai akibat dari <i>respiratory burst</i> dan dikeluarkan untuk mempercepat proses destruksi. Neutrofil juga hancur dalam proses ini. |

(Ciesla, 2007)

#### 4.1 Granulasi Toksik (*Toxic granulation*)

Granula pada neutrofil segmen normal terlihat seperti debu, dengan granula kemerahan-biru violet yang merupakan konsekuensi dari aktivitas melawan bakteri atau protein dan ditemukan pada infeksi serius, efek obat atau toksik, atau proses autoimun (misalnya poliartritis kronis). Granulasi toksik (Gambar 4.1) adalah granulasi yang berlebihan dalam jumlah dan intensitas, dengan butiran yang lebih menonjol dalam neutrofil segmen sebagai respons langsung terhadap peningkatan produksi enzim lisosom. Granula ini sering berwarna biru-hitam. Cluster granulasi toksik biasanya muncul dalam neutrofil, dan pada keadaan sangat berat granula menyerupai granula basofilik.

Di laboratorium klinis, granulasi toksik dilaporkan keberadaannya atau dinilai sebagai sedikit, sedang, atau ditandai (misalnya, 11-41) oleh para profesional laboratorium. Tingkat penilaian tergantung pada derajat granulasi toksik dalam sel individu dan fraksi relatif neutrofil dengan granulasi toksik. Sebanyak 15% sampel darah memerlukan pengamatan mikroskopis secara manual guna membantu diagnosis granulasi toksik.

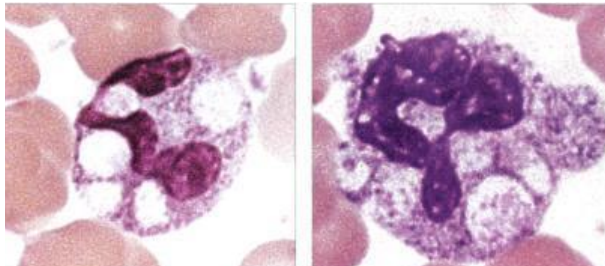


**Gambar 4.1** Gambar berbagai tingkat Granulasi Toksik: (A) dari kiri ke kanan menunjukkan level 0, level 1 dan level 2, (B) Granulasi Toksik yang terdeteksi dalam neutrofil (Qiao, 2011)

#### 4.2 Vakuolisasi Toksik (*Toxic vacuolization*)

Perubahan ini terjadi pada neutrofil segmen. Vakuola yang muncul di sitoplasma sel mungkin besar atau kecil (Gambar 4.2). Darah yang lama terpapar dengan obat-obatan, seperti sulfonamide dan kloroquine dapat menyebabkan fagositosis pada granula atau isi sitoplasma. Selain itu, Vakuola kecil *uniformly* ditemukan pada hapusan darah tepi yang dibuat dari darah yang telah ditangguhkan. Pada kasus pembuatan hapusan darah tepi yang ditunda maka akan ditemukan vakuolisasi-semu (*pseudo-vacuolization*). Fenomena ini harus dibedakan dari varietas patogen. Vakuola yang lebih besar tidak terdistribusi merata di seluruh sitoplasma dan umumnya menandakan adanya infeksi serius dan kemungkinan sepsis. Penelitian telah menunjukkan bahwa ketika 10% dari neutrofil dipengaruhi oleh

vakuola dalam sampel baru, ini merupakan indikator prognostik yang serius dan signifikan. Ada korelasi yang tinggi antara keberadaan neutrofil vakuola dengan satu atau lebih kultur mikrobiologis positif. Neutrofil vakuola terjadi pada infeksi serius dari berbagai tempat, belum tentu darah. Di antara kultur darah, *Staphylococcus aureus* adalah organisme yang paling umum. Dalam jenis kultur lain, *S. aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* adalah organisme yang paling umum, diikuti oleh *Escherichia coli*. Keberadaan neutrofil vakuola dianggap sebagai *panic value* sebagai indikator hematologi dari infeksi parah dan sering kali mengancam jiwa.

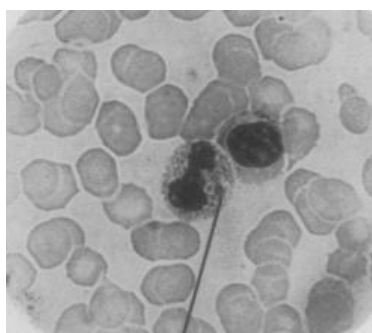


**Gambar 4.2** Vakuola neutrofil dengan pewarnaan Wright (Jafri & Kass, 2018)

### 4.3 Badan Dohle (*Dohle Bodies*)

Badan bundar berwarna biru di sitoplasma neutrofil dilaporkan oleh Dohle pada tahun 1911 (Gambar 4.3). Dia mengamati badan-badan inklusi ini (sekarang dikenal sebagai badan Dohle) dalam *scarlet fever*, tetapi struktur serupa telah dicatat pada banyak penelitian lain dan berhubungan dengan berbagai penyakit, termasuk difteri (Kolmer, 1912), tifus (MacEwen, 1914), TBC (Bachman dan Lucke, 1918) dan pada pasien dengan luka bakar (Weiner dan Topley, 1955). May (1909) memperhatikan badan inklusi persisten dalam neutrofil dari orang sehat, berhubungan dengan *giant platelet*. Pada tahun 1945 ditemukan badan Dohle dalam neutrofil dan trombositopenia kronis.

Inklusi sitoplasma ini terdiri dari RNA ribosom, berukuran sekitar 1-5  $\mu\text{m}$ , terletak di dekat membran sitoplasma, dan tampak seperti tongkat abu-abu pucat. Inklusi *transient* ini sering ditemukan dalam neutrofil, juga ditemukan pada monosit dan band. *Dohle bodies* sulit diamati dengan mikroskop cahaya, dan hapusan darah tepi harus diperiksa secara teliti untuk mengetahui keberadaannya. *Dohle bodies* juga dapat dilihat dalam kondisi non-patologis seperti kehamilan.

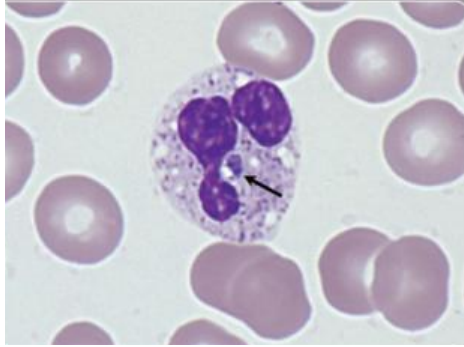


**Gambar 4.3** Badan Dohle pada hapusan darah pasien yang menderita luka bakar (Weiner & Topley, 1955)

### 4.4 Ehrlichiosis pada manusia

Penyakit ini ditemukan oleh ahli mikrobiologi terkemuka, Paul Ehrlich. Ehrlichia adalah bakteri gram negatif intraseluler yang dapat ditularkan melalui kutu ke manusia dari hewan peliharaan ataupun hewan ternak, seperti anjing, rusa, atau kuda. Ehrlichiosis merupakan penyakit menular karena bakteri yang ditularkan melalui kutu (*tick-borne*), yang menunjukkan adanya inklusi leukosit. Penyakit ini terdiri dari dua tipe, yaitu: (1) human monocytic ehrlichiosis (HME), yang disebabkan oleh *Rickettsia* seperti bakteri *Ehrlichia chaffeensis*, dan (2) human ehrlichiosis granulocytic (HE) pada Gambar 4.4, disebabkan oleh

*Rickettsia* seperti bakteri *Ehrlichia phagocytophilia*. Penyakit ini sulit didiagnosis karena pasien menunjukkan gejala yang tidak jelas yang sering keliru dengan penyakit menular lainnya. Gejala awal seperti flu, sampai dengan demam tinggi, kedinginan, dan sakit kepala. Pada penyakit ini ditemukan jumlah leukosit rendah, enzim hati sangat tinggi, dan trombositopenia. Inklusi dapat dilihat pada granulosit atau monosit dari sumsum tulang, dan morula ini seperti mulberry, inklusi berukuran besar, 1-3  $\mu\text{m}$ , dan menyerupai buah beri.



**Gambar 4.4** Human granulocytotropic ehrlichiosis (Maslak & Southern, 2003)

## BAB 5 LEUKEMIA

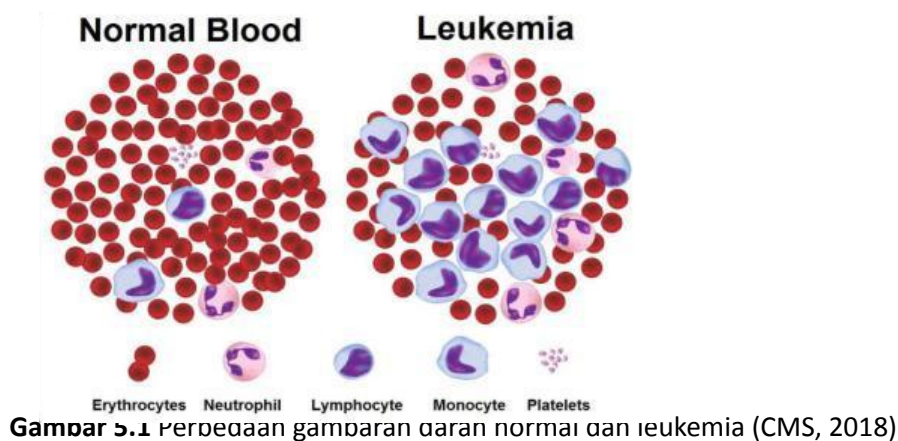
### A. DEFINISI LEUKEMIA

Leukemia disebabkan oleh mutasi sumsum tulang pluripoten atau *most primitive stem cells*. Neoplastik ini merupakan hasil perkembangan abnormal, sel leukemia dan gangguan produksi eritrosit, neutrofil, dan trombosit. Sebagai hasil mutasi sel, dan gangguan hematopoiesis, sel leukemia masuk ke darah perifer dan menyerang jaringan retikuloendotelial, khususnya limpa, hati, kelenjar getah bening, dan terkadang sistem saraf pusat. *Stem cells* leukemia memiliki kemampuan perkembangan dan maturasi abnormal. Klon mutan dapat menunjukkan fitur morfologis, sitogenetik, dan imunofenotipik yang unik sehingga dapat digunakan dalam mengklasifikasikan jenis-jenis leukemia. Banyak leukemia memiliki gambaran klinis yang serupa, tetapi terlepas dari subtipe, penyakit ini akan berakibat fatal jika tidak segera diobati.

### B. PERBEDAAN LEUKEMIA AKUT DAN KRONIK

Untuk menentukan seseorang menderita leukemia, dapat dilakukan dengan cara evaluasi awal leukemia dengan cara (Tabel 5.1), yaitu: memperhatikan gejala yang timbul, menganalisis hasil pemeriksaan darah lengkap (DL), mengamati jenis sel yang banyak ditemukan, dan menilai maturasi sel yang banyak ditemukan (mendominasi). Leukemia merupakan penyakit sumsum tulang yang menyebabkan produksi sel sumsum tulang normal menjadi terdesak ketika sel-sel neoplastik abnormal mengambil alih, hasil darah lengkap (DL) umumnya akan menunjukkan anemia dan trombositopenia. Tingkat anemia dan trombositopenia cenderung lebih parah pada leukemia akut. Sedangkan ciri khas leukemia kronis ialah terjadi leukositosis serta hepatosplenomegali (Tabel 5.1).

Jenis sel yang mendominasi dalam darah perifer dan sumsum tulang didefinisikan menurut garis keturunan sel (*cell lineage*) sebagai myeloid atau limfoid. *Stem cell* myeloid menghasilkan



**Tabel 5.1** Perbedaan Leukemia Akut dan Kronik

Karakteristik	Leukemia Akut	Leukemia Kronik
Onset	Mendadak/ tiba-tiba	Perlahan
Morbiditas	Dalam beberapa bulan	Bertahun-tahun
Usia	Semua usia	Dewasa
Leukosit	Dapat berubah	Tinggi
Sel yang dominan	Blast dan leukosit imatur lainnya	Matur
Anemia, trombositopenia	Ada	Dapat berubah
Neutropenia	Ada	Dapat berubah
Organomegali	Ringan	Jelas

(Ciesla, 2007)

granulosit, monosit, megakariosit, dan eritrosit. Oleh karena itu, leukemia myeloid dapat melibatkan proliferasi tahap apa pun dari keempat garis sel ini. Sebaliknya, *stem cell* limfoid hanya menimbulkan sel-sel *cell lineage* limfositik.

Maturasi sel dapat digunakan untuk membedakan diagnosis awal antara leukemia akut dan kronis. Ketika sel *blast* atau sel imatur yang mendominasi maka diklasifikasikan sebagai leukemia akut. Sedangkan apabila banyak didominasi oleh tipe sel yang lebih matur maka termasuk leukemia kronis. Onset leukemia akut dan kronis jelas berbeda. Leukemia akut memiliki onset cepat, sedangkan leukemia kronis memiliki perjalanan yang lambat, berbahaya dan bahkan dapat ditemukan pada pemeriksaan fisik rutin. Usia adalah faktor lain yang sering konsisten terjadi pada jenis leukemia tertentu. Meskipun leukemia akut dapat terjadi pada usia berapa pun, leukemia kronis biasanya merupakan penyakit yang terlihat pada orang dewasa. Jenis leukemia dapat dikategorikan menjadi empat kelompok, yaitu:

- Leukemia mieloid akut (AML)
- Leukemia limfoblastik akut (ALL)
- Leukemia myelocytic kronis (CML)
- Leukimia limfositik kronis (CLL)

### 5.1 Acute Myeloid Leukemia (AML)

AML merupakan hasil dari perubahan yang diperoleh dalam DNA (materi genetik) dari sel sumsum yang sedang berkembang. Setelah sel sumsum menjadi sel leukemia, dia bermultiplikasi menjadi 11 miliar sel atau lebih. Sel-sel ini disebut *leukemic blast*, dan tidak berfungsi secara normal. Namun, mereka

berkembang dan bertahan lebih baik dari sel-sel normal. Kehadiran *leukemic blast* menghambat produksi sel normal. Akibatnya, ketika AML didiagnosis, jumlah sel darah sehat (eritrosit, leukosit, dan trombosit) biasanya lebih rendah dari normal (Gambar 5.2). AML adalah penyakit klonal ganas yang melibatkan proliferasi *blast* di sumsum tulang, darah, atau jaringan lainnya. Sel *blast* yang paling sering menunjukkan diferensiasi yaitu mieloid atau monosit. Hampir 80% pasien dengan AML akan menunjukkan kelainan kromosom, biasanya terjadi mutasi akibat translokasi kromosom (perpindahan satu bagian kromosom ke yang lain). Translokasi ini menyebabkan onkogen abnormal atau ekspresi gen penekan tumor, dan menghasilkan proliferasi sel yang tidak teratur. Sindrom genetik dan paparan toksik berkontribusi terhadap patogenesis pada beberapa pasien.

Meskipun penyakit yang dikelompokkan ke dalam kategori leukemia myelogenous akut memiliki manifestasi klinis yang serupa, namun memiliki morfologi, immunophenotyping, dan fitur sitogenetik yang berbeda. Pewarnaan sitokimia digunakan bersama dengan morfologi untuk membantu mengidentifikasi *lineage* populasi *blast*. Mikroskopi elektron juga dapat digunakan untuk subklasifikasi berbagai leukemia. Ketika morfologi dan atau bukti sitokimia dari *lineage* tidak ada, *flow cytometry* digunakan untuk secara spesifik menandai antigen myeloid atau limfoid sehingga dapat mengklasifikasikan leukemia akut. Kejadian AML meningkat seiring dengan bertambahnya usia, terdapat 80% leukemia akut pada orang dewasa dan 15-20% leukemia akut pada anak-anak. Tingkat AML agak lebih tinggi pada pria daripada wanita, dan ada peningkatan insiden di negara-negara maju dan industri. Populasi Eropa Timur memiliki peningkatan risiko AML, sedangkan populasi Asia memiliki risiko yang menurun. Risiko AML meningkat sekitar 10 kali lipat dari usia 30-34 tahun (sekitar 1 kasus per 100.000 orang) hingga usia 65-69 tahun (sekitar 10 kasus per 100.000 orang). Untuk orang di atas 70 tahun, angka kejadian terus meningkat dan memuncak antara usia 80-84 tahun.

### **Gejala Klinis AML**

Semua tanda dan gejala yang muncul secara tiba-tiba pada pasien dengan AML disebabkan oleh infiltrasi sumsum tulang dengan sel-sel leukemia dan kegagalan hematopoiesis normal. Sel-sel leukemia yang menyerang sumsum tulang ini disfungsi, dan tanpa elemen hematopoietik yang normal sehingga menyebabkan pasien berisiko mengalami komplikasi anemia yang mengancam jiwa, infeksi akibat neutropenia fungsional, dan perdarahan akibat trombositopenia. Kelelahan dan kelemahan adalah keluhan paling umum yang mencerminkan keparahan anemia. Pucat, dispnea saat aktivitas, jantung berdebar, dan menurunnya kesehatan secara umum telah dijelaskan. Demam terjadi sekitar 15- 20% dari pasien dan mungkin diakibatkan infeksi bakteri, jamur, dan infeksi virus (lebih jarang), atau dari beban leukemia sel pada jaringan dan organ.

Mudah memar, petekie, dan perdarahan pada mukosa dapat ditemukan karena trombositopenia. Gejala lain yang lebih parah terkait dengan penurunan jumlah trombosit yang lebih jarang terjadi ialah gastrointestinal atau saluran genitourinari dan perdarahan sistem saraf pusat (SSP). Infiltrasi SSP dengan jumlah sel leukemia yang tinggi telah dilaporkan pada 5- 20% anak-anak dan sekitar 15% orang dewasa dengan AML. Sakit kepala, kebutaan, dan komplikasi neurologis lainnya adalah indikasi keterlibatan meningeal. Sel-sel *blast* leukemia beredar melalui darah perifer dan dapat menyerang jaringan apa pun. Hematopoiesis ekstrameduler sering terjadi pada leukemia monositik atau mielomonositik. Organ-organ yang aktif dalam hematopoiesis janin dapat diaktifkan kembali untuk menghasilkan sel lagi ketika ditekan oleh kinerja buruk dari sumsum tulang yang terbebani leukemia. Hepatosplenomegali atau limfadenopati dapat terjadi namun tidak sekuat pada leukemia kronik. Infiltrasi kulit sangat khas pada leukemia monositik, khususnya infiltrasi gusi, yang disebut *gingival hyperplasia*. Ketika sel-sel leukemia memadati sumsum tulang pada tulang panjang, dapat menyebabkan terjadinya nyeri sendi.

### **Diagnosis Laboratorium AML**



Pemeriksaan Darah Lengkap dan hapusan darah tepi merupakan langkah awal dalam diagnosis laboratorium leukemia. Jumlah sel darah bervariasi pada pasien dengan AML. Jumlah leukosit dapat normal, meningkat, ataupun menurun. Jumlah leukosit ditemukan meningkat lebih dari  $100 \times 10^9/L$  sel kurang dari 20% kasus. Sebaliknya, leukosit kurang dari  $5 \times 10^9/L$  dengan jumlah neutrofil absolut kurang dari  $1 \times 10^9/L$  pada sekitar setengah pasien pada saat diagnosis. Sel *blast* biasanya terlihat pada pemeriksaan hapusan darah tepi, namun jumlahnya sedikit pada pasien leukopenia. Inklusi sitoplasma yang dikenal sebagai *Auer rods* sering ditemukan dalam persentase kecil myeloblas, monoblas, atau promyelosit yang terdapat dalam berbagai subtype AML. *Batang Auer* berbentuk bulat panjang, seperti kumparan dan inklusi terdiri dari granula azurophilic. Eritrosit berinti mungkin ada, serta myelodysplastic, termasuk pseudo-hiposegmentasi (*pseudo Pelger-Huët sel*) atau hipersegmentasi neutrofil, dan hipogranulasi. Selain itu ditemukan gambaran anemia karena produksi eritrosit yang tidak adekuat. Jumlah retikulosit biasanya normal atau menurun. Anisopoikilositosis sedikit abnormal, dengan sedikit poikilosit. Trombositopenia yang parah hampir selalu ditemukan pada saat diagnosis. *Giant* trombosit dan trombosit agranular dapat terlihat. *Disseminated intravascular coagulation* (DIC) paling sering dihubungkan dengan salah satu jenis AML, yaitu leukemia promyelocytic akut. DIC disebabkan oleh pelepasan faktor jaringan seperti prokoagulan dari granula azurofilik dari *neoplastic promyelocytes*, yang pada gilirannya mengaktifkan koagulasi dan selanjutnya mengkonsumsi *platelet*, yang mengarah pada *bleeding diathesis* yang berbahaya. Sebelum pengobatan, kadar asam urat serum dan laktat dehidrogenase (LDH) sering ringan atau sedikit meningkat.

Ciri khas dari leukemia akut ialah sumsum tulang hiperselular, dengan *blast* leukemik 20-90% pada saat diagnosis atau saat kambuh. Jumlah *blast* berkembang tanpa pandang bulu karena sel-sel ini hanya memiliki kemampuan diferensiasi terbatas dan beku di dalamnya pada tahap perkembangan paling awal. Sel *blast* yang mendominasi tergantung pada jenis leukemia akut. Klasifikasi terbaru untuk tumor hematologis dan limfoid yang diterbitkan oleh Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) merekomendasikan bahwa persentase *blast* yang diperlukan untuk diagnosis leukemia myeloid akut lebih besar dari atau sama dengan 20% myeloblas dalam darah atau sumsum. Ketika melakukan hapusan darah tepi pada pasien dengan dugaan diagnosis leukemia, setidaknya 200 leukosit harus diklasifikasikan. Disarankan bahwa persentase *blast* di sumsum tulang berasal dari 500 sel *differential counting*. Jika leukosit kurang dari  $2 \times 10^9/L$ , maka harus dilakukan pemeriksaan *differential counting* pada hapusan darah *buffy coat*.

## 5.2 Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL)

Leukemia limfoblastik akut (ALL) merupakan transformasi keganasan dan proliferasi sel-sel progenitor limfoid di sumsum tulang, darah, dan ekstrasmedulla (Gambar 5.3). Sebanyak 80% ALL terjadi pada anak-anak, dan merupakan penyakit yang berbahaya ketika terjadi pada orang dewasa. Di Amerika Serikat, insiden ALL diperkirakan 1,6 per 100.000 penduduk. Pada tahun 2016, diperkirakan 6.590 kasus baru didiagnosis, dengan lebih dari 1.400 kematian akibat ALL. Insiden ALL tertinggi menyerang pada masa kanak-kanak dan tertinggi kedua terjadi sekitar usia 50 tahun. ALL didapat dari diturunkan (*acquired*) atau karena cedera genetik pada DNA sel tunggal di sumsum. ALL mengakibatkan perkembangan yang tidak terkendali dan berlebihan serta terjadinya akumulasi sel yang disebut "limfoblas" atau "*leukemic blast*," yang gagal berfungsi sebagai sel darah normal. Kehadiran *leukemic blast* akan menghambat produksi sel normal. Sehingga ketika didiagnosis ALL maka jumlah sel darah sehat (eritrosit, leukosit, dan trombosit) biasanya lebih rendah dari normal.

**Tabel 5.2** Klasifikasi AML dan Neoplasma Menurut WHO

Types	Genetic abnormalities
AML with recurrent genetic abnormalities	AML with t(8:21)(q22;q22); RUNX1-RUNX1T1 AML with inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22); CBFβ-MYH11 APL with PML-RARA AML with t(9;11)(p21.3;q23.3); MLLT3-KMT2A ML with t(6;9)(p23;q34.1); DEK-NUP214 AML with inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2); GATA2, MECOM AML (megakaryoblastic) with t(1;22)(p13.3;q13.3); RBM15-MKL1 AML with BCR-ABL1 (provisional entity) AML with mutated NPM1 AML with biallelic mutations of CEBPA AML with mutated RUNX1 (provisional entity)
AML with myelodysplasia-related changes Therapy-related myeloid neoplasms	AML with minimal differentiation AML without maturation AML with maturation

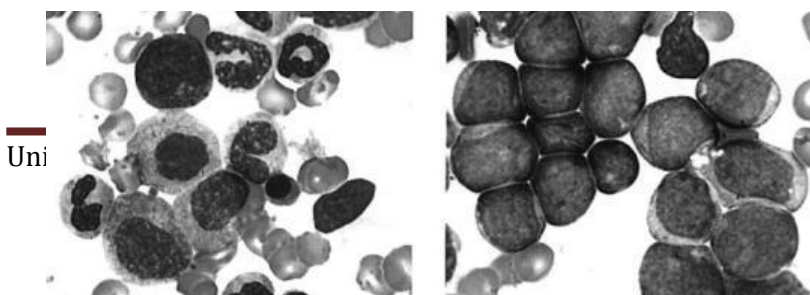


**Tabel 5.3** Klasifikasi Leukemia Akut Menurut FAB

Designation	Descriptive Name
M0	Acute myeloblastic leukemia, minimally differentiated
M1	Acute myeloblastic leukemia without maturation
M2	Acute myeloblastic leukemia with maturation
M3	Acute promyelocytic leukemia, hypergranular
M3v	Acute promyelocytic leukemia, microgranular
M4	Acute myelomonocytic leukemia
M4Eo	Acute myelomonocytic leukemia with eosinophilia
M5a	Acute monoblastic leukemia, poorly differentiated
M5b	Acute monoblastic leukemia, with differentiation
M6	Erythroleukemia
M7	Acute megakaryoblastic leukemia
L1*	Acute lymphoblastic leukemia
L2*	Acute lymphoblastic leukemia
L3*	Acute lymphoblastic leukemia, leukemic phase of Burkitt's lymphoma

\*Based on blast morphology

Patogenesis ALL melibatkan proliferasi abnormal dan diferensiasi populasi klon sel limfoid. Berdasarkan penelitian pediatrik diketahui bahwa sindrom genetik mempengaruhi sebagian kecil kasus ALL, seperti Down syndrome, Fanconi anemia, Bloom syndrome, ataxia telangiectasia dan Nijmegen breakdown syndrome. Faktor predisposisi lainnya termasuk paparan radiasi ionizing, pestisida, pelarut tertentu atau virus, seperti Epstein-Barr Virus dan Human Immunodeficiency Virus. Namun, dalam sebagian besar kasus, ini tampak sebagai malignansi de novo pada individu yang sebelumnya sehat. Kromosom aberasi adalah ciri khas ALL, namun tidak cukup untuk menghasilkan leukemia. Baru-baru ini ditemukan varian dengan profil ekspresi gen yang sama dengan (Philadelphia) Ph-positif ALL tetapi tanpa rearrangement BCR-ABL1 yang telah diidentifikasi. Lebih dari 80% dari kasus ini yang disebut ALL Ph-like, varian memiliki delesi pada faktor key transkripsi yang terlibat dalam pengembangan sel-B termasuk IKAROS family zinc finger 1 (IKZF1), faktor 3 transkripsi (E2A), *early B-cell factor 1* (EBF1) and padan *paired box 5* (PAX5). Demikian pula, mutasi yang mengaktifkan kinase terlihat pada 90% ALL *Ph-like*. Yang paling umum dari ini termasuk pengaturan ulang melibatkan ABL1, JAK2, PDGFRB, CRLF2 dan EPOR, mengaktifkan mutasi IL7R dan FLT3 dan delesi SH2B3, yang mengkodekan *JAK2-negative regulator LNK*. Ini memiliki implikasi terapeutik yang signifikan karena menunjukkan bahwa ALL *like ph* cenderung membawa prognosis yang lebih buruk dan dapat merespon inhibitor kinase.



**Gambar 5.2** Perbedaan gambaran darah normal dan AML: (a) Menunjukkan sel pada sumsum normal, bentuk lebih gelap adalah inti sel. Beberapa nukleus berbentuk lingkaran dan beberapa berbentuk tapal kuda yang mencerminkan berbagai tahap perkembangan dan berbagai jenis sel; (b) Menunjukkan sel-sel *blast* AML. Sel-sel ini "ditangkap" pada tahap awal perkembangan. Sel-sel AML pada Gambar b semuanya memiliki penampilan yang serupa, berbeda dengan penampilan bervariasi dari sel-sel normal pada Gambar a (Karp, 2011)

Beberapa faktor telah dihubungkan dengan peningkatan risiko pengembangan penyakit. Paparan radiasi dosis tinggi (dipelajari dengan cermat pada korban yang selamat dari ledakan bom atom di Jepang) adalah salah satu faktor tersebut. ALL terjadi pada tingkat yang berbeda di berbagai pengaturan. Ada tingkat leukemia yang lebih tinggi di negara-negara yang lebih maju dan di kelompok sosial ekonomi yang lebih tinggi. Temuan-temuan ini dan lainnya telah mengarah pada hipotesis bahwa mengurangi paparan anak-anak terhadap infeksi bakteri selama tahun pertama kehidupan mungkin telah meningkatkan risiko ALL masa kanak-kanak. Meskipun demikian, ada manfaat lain yang dapat menyelamatkan jiwa jika menghindari infeksi bakteri pada saat bayi. Seorang anak yang terpapar rontgen beberapa kali mungkin memiliki risiko yang sedikit meningkat untuk ALL, namun masih perlu dilakukan banyak penelitian untuk mengkonfirmasi temuan penelitian ini. Kemoterapi dan terapi radiasi sebelumnya dapat menjadi penyebab ALL pada orang dewasa.

Penelitian perlu dilakukan untuk mengeksplorasi kemungkinan hubungan dengan faktor gaya hidup atau lingkungan. Penelitian mendukung pandangan bahwa sejumlah faktor kompleks mungkin terlibat. Satu studi menemukan bahwa anak-anak yang terpapar pestisida pertanian di dekat rumah mereka mungkin mengalami peningkatan risiko ALL yang signifikan. Beberapa kasus ALL berhubungan dengan mutasi pada limfosit yang terjadi selama periode prenatal (in utero). Biasanya leukemia didiagnosis pada masa bayi atau beberapa tahun pertama setelah kelahiran. Namun, dalam beberapa kasus, bertahun-tahun mungkin berlalu sebelum penyakit muncul. Dengan ALL, tampaknya kelainan genetik tambahan dapat terjadi setelah kelahiran dan memungkinkan pertumbuhan sel yang tidak teratur dapat memicu penyakit, karena ada lebih banyak mutasi yang ditemukan di dalam rahim daripada kasus ALL pada masa kanak-kanak.

### **Gejala Klinis ALL**

Bagi seseorang dengan ALL umumnya akan merasa kehilangan semangat karena kurangnya produksi sel-sel normal dalam sumsum tulang. Orang tersebut mungkin lebih mudah lelah dan sesak napas selama aktivitas fisik normal. Untuk mulai menentukan alasan gejala dan tanda ini maka diperlukan pemeriksaan Darah Lengkap. Jumlah eritrosit, leukosit, dan trombosit yang rendah umum pada pasien yang baru didiagnosis ALL. Tanda dan gejala lain yang mungkin dimiliki oleh seseorang dengan ALL, antara lain:

1. Pewarna kulit pucat karena anemia
2. Tanda-tanda perdarahan yang disebabkan oleh jumlah trombosit yang sangat rendah, misalnya: memar (hitam dan biru) atau terjadi tanpa alasan atau karena cedera ringan; munculnya bintik-bintik merah di kulit (*petechiae*); pendarahan berkepanjangan dari luka ringan
3. Demam ringan
4. Sering infeksi kecil
5. *Discomfort* pada tulang atau sendi

6. Limpa, hati atau kelenjar getah bening membesar. Sel leukemia juga dapat terkumpul di testis pada sejumlah kecil pasien.
7. Perdarahan. Jumlah trombosit yang rendah dapat menyebabkan pasien mengalami perdarahan. Pendarahan di otak atau paru-paru serius dan bisa berakibat fatal. Namun, pendarahan seperti itu biasanya terjadi setelah pendarahan kecil, seperti mimisan, darah dalam urin atau memar.
8. Infeksi. Infeksi yang parah biasanya tidak terjadi pada saat diagnosis. Jika jumlah neutrofil menjadi atau tetap rendah karena ALL atau perawatannya maka dapat terjadi infeksi serius dan mengancam jiwa. Namun, jika tindakan pencegahan yang tepat diambil selama terapi, sebagian besar pasien tidak mengalami infeksi yang mengancam jiwa.

Sebagian besar manifestasi klinis ALL mencerminkan akumulasi ganas, sel limfoid berdiferensiasi buruk di dalam sumsum tulang, darah tepi, dan bagian ekstramedullary. Presentasi dapat menjadi tidak spesifik, dengan kombinasi gejala konstitusional dan tanda-tanda kegagalan sumsum tulang (anemia, trombositopenia, leukopenia). Gejala umum termasuk 'gejala B' (demam, penurunan berat badan, keringat malam), pendarahan atau mudah memar, kelelahan, dispnea dan infeksi. Keterlibatan bagian ekstramedullary biasanya terjadi dan dapat menyebabkan limfadenopati, splenomegali atau hepatomegali pada 20% pasien. Keterlibatan SSP pada saat diagnosis terjadi pada 5-8% pasien dan hadir paling sering sebagai defisit saraf cranial atau meningismus. *ALL T-cell* juga dapat hadir dengan massa mediastinum. Diagnosis ditegakkan dengan adanya 20% atau lebih limfoblas di sumsum tulang atau darah tepi. Evaluasi untuk morfologi, aliran cytometry, Immunophenotyping dan pengujian sitogenetik bernilai baik untuk mengkonfirmasi diagnosis dan risiko stratifikasi. Lumbal *puncture* dengan analisis CSF adalah standar perawatan pada saat diagnosis untuk mengevaluasi keterlibatan SSP. Jika SSP terlibat maka MRI otak harus dilakukan. Evaluasi lainnya termasuk hitung darah lengkap dengan *diferensial counting* dan hapusan darah untuk mengevaluasi garis sel hematopoietik lainnya, profil koagulasi dan kimia serum. Asam urat, kalsium, fosfat dan laktat dehidrogenase harus dicatat untuk memantau *tumor lysis syndrome*.

### **Diagnosis Laboratorium ALL**

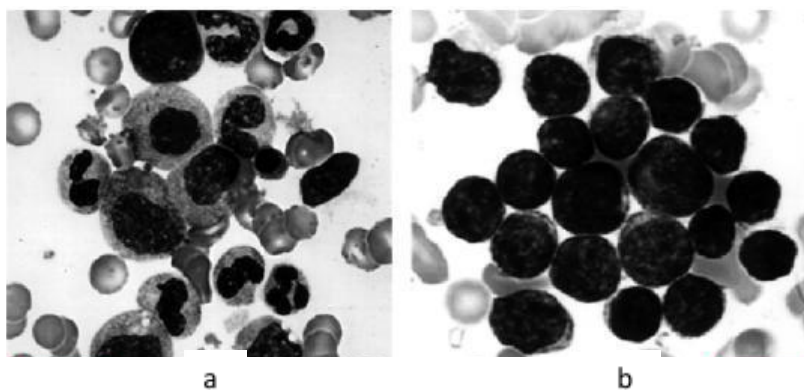
Diagnosis jenis leukemia yang akurat sangat penting untuk membantu dalam memperkirakan bagaimana penyakit akan berkembang, serta menentukan perawatan yang tepat bagi penderitanya. Salah satu pemeriksaan yang diperlukan untuk diagnosis ALL adalah tes darah dan sumsum tulang. Sampel untuk pemeriksaan darah dapat berasal dari pembuluh darah vena, sedangkan sampel sel sumsum diperoleh melalui aspirasi sumsum tulang dan biopsi sumsum tulang. Sel darah dan sumsum tulang diperiksa untuk mendiagnosis ALL dan mengidentifikasi sub tipe ALL. Sampel darah yang diperoleh dilakukan pemeriksaan hapusan darah dengan mikroskop cahaya, dan menunjukkan adanya sel-sel *blast* leukemia (sel imatur yang tidak berfungsi seperti leukosit matur normal). Pemeriksaan sumsum tulang lebih sering dilakukan untuk mendiagnosis ALL karena sebagian pasien tidak memiliki *blast* leukemia yang beredar dalam darah pada saat diagnosis.

ALL memiliki banyak sub tipe dan dapat diklasifikasikan dengan tes imunologis, sitogenetik, dan genetik molekuler. Beberapa tes ini dapat diulangi selama dan setelah terapi untuk mengukur efek dari pengobatan. Untuk menentukan obat atau kombinasi obat, dosis obat, dan durasi pengobatan mana yang paling sesuai untuk pasien tergantung pada sub tipesnya, serta mungkin perlu dilakukan perawatan lain, seperti transplantasi *stem cell* untuk mencapai hasil terbaik. *Immunophenotyping* merupakan digunakan untuk mengidentifikasi sel-sel berdasarkan jenis protein (antigen) pada permukaan sel, diperlukan untuk menegakkan diagnosis sel B ALL, sel T ALL atau leukemia myeloid akut (AML). *Flow cytometry* adalah nama dari satu tes yang dapat digunakan untuk melakukan immunophenotyping. ALL dibagi menjadi dua sub tipe utama berdasarkan karakteristik fisik dan tingkat perkembangan sel-sel leukemia. Klasifikasi dasar ini

membantu tim perawatan untuk mulai merencanakan perawatan terbaik bagi pasien. Subtipe ALL utama, yaitu: leukemia limfoblastik B dan leukemia limfoblastik T.

Fenotip atau karakteristik fisik sel leukemia menentukan apakah sel-sel tersebut berasal dari sel-B atau sel-T. Subtipe sel-B diidentifikasi dengan menemukan penanda permukaan sel pada sel-sel *blast* leukemia yang sama dengan yang berkembang pada limfosit B normal. Subtipe sel-T diidentifikasi dengan menemukan *marker* permukaan sel pada sel-sel blast leukemia yang sama dengan yang berkembang pada limfosit T normal. Tidak semua penyakit *lineage* sel B pengobatannya sama. Leukemia sel B dewasa juga dikenal sebagai leukemia Burkitt atau limfoma. Ini menyumbang 2-3% dari pasien ALL. Perawatan untuk leukemia Burkitt didasarkan pada terapi untuk limfoma non-Hodgkin dan sama sekali berbeda dari perawatan yang digunakan untuk ALL. Dalam beberapa penelitian, ALL telah dibagi menjadi CD10 (antigen leukemia limfoblastik akut umum, disingkat cALLa) positif dan negatif CD10. Namun, kategori ALL ini belum digunakan dalam menentukan pendekatan pengobatan. Klasifikasi genetik sel ALL juga penting. Sekitar 75% dari kasus dewasa dan masa kanak-kanak dapat diklasifikasikan ke dalam subkelompok berdasarkan jumlah kromosom atau analisis DNA, pengaturan ulang kromosom spesifik dan perubahan genetik molekuler.

Karyotyping dan analisis sitogenetik merupakan proses untuk mengidentifikasi perubahan tertentu dalam kromosom dan gen. Tes laboratorium yang disebut *fluoresensi in situ hybridization* (FISH) dan *polymerase chain reaction* (PCR) *assay* dapat dilakukan, di mana sel-sel dalam sampel sumsum dipelajari untuk mencari perubahan tertentu dalam struktur atau fungsi gen. Dalam beberapa kasus, tes khusus lainnya dapat digunakan. Pemeriksaan sel leukemia dengan teknik sitogenetik memungkinkan identifikasi kelainan kromosom atau gen. Translokasi adalah jenis perubahan DNA paling umum yang dikaitkan dengan ALL. Dalam translokasi, DNA dari satu kromosom terputus dan menjadi melekat pada kromosom yang berbeda. Perubahan kromosom lain seperti *deletion* (bagian dari kromosom hilang) dan *inversion* (penataan ulang DNA di dalam bagian kromosom) juga dapat menyebabkan perkembangan ALL, tetapi perubahan ini kurang umum. Dalam banyak kasus ALL, perubahan genetik tidak diketahui. Tidak semua kasus ALL menunjukkan perubahan kromosom yang sama. Beberapa lebih umum daripada yang lain dan beberapa memiliki efek yang lebih besar pada prognosis pasien daripada yang lain. Gambaran lain yang penting dalam memandu pendekatan pengobatan termasuk usia pasien, peningkatan jumlah leukosit, keterlibatan sistem saraf pusat dan kelenjar getah bening.



**Gambar 5.3** Perbedaan gambaran darah normal dan LLA: (a) Menunjukkan sel yang berkembang di sumsum sehat. Variasi dalam penampilan sel adalah karakteristik dari sumsum normal; (b) Menunjukkan sel sumsum dari pasien dengan leukemia limfoblastik akut. Penampilan yang tidak bervariasi menandakan sel-sel *blast* leukemia (Raetz, 2014)

### 5.3 Chronic Myelocytic Leukemia (CML)

CML juga dikenal sebagai leukemia myeloid kronis, yaitu kelainan mieloproliferatif yang ditandai dengan meningkatnya proliferasi garis sel granulositik tanpa kehilangan kemampuannya untuk berdiferensiasi. CML menyumbang 20% dari semua leukemia yang mempengaruhi orang dewasa. CML merupakan neoplasma mieloproliferatif dengan ciri adanya ekspansi yang tidak terkendali dari *stem cell*

sumsum tulang pluripoten. Ciri khas penyakit ini memiliki kromosom Philadelphia (Ph), menghasilkan gen fusi BCR-ABL dan produksi protein fusi BCR-ABL. BCR-ABL memiliki aktivitas tirosin kinase konstitutif yang diperlukan dan cukup untuk produksi penyakit. Dalam 5-10% kasus kromosom Ph bersifat kriptogenetik yang sering disebabkan oleh translokasi yang kompleks. Diagnosisnya memerlukan *Fluorescent In Situ Hybridization* (FISH) untuk menunjukkan gen fusi BCR-ABL atau *polymerase chain reaction* (PCR) untuk menunjukkan transkrip mRNA BCR-ABL.

### **Gejala Klinis CML**

Sebanyak 50% pasien tidak menunjukkan gejala (*asymptomatic*) dan didiagnosis secara kebetulan setelah evaluasi hasil pemeriksaan laboratorium rutin. Gambaran klinis umumnya tidak spesifik, seperti splenomegali (46-76%) yang dapat menyebabkan nyeri kuadran kiri atas atau rasa kenyang dini, kelelahan, keringat malam, gejala anemia dan perdarahan karena terjadi disfungsi trombosit (trombositosis), <5% pasien datang dengan gejala hiperviskositas, termasuk priapismus yang umumnya terlihat ketika jumlah leukosit lebih dari 250.000/ $\mu$ L. Penyakit ini dapat diklasifikasikan ke dalam tiga fase, yaitu:

- a. *Chronic phase* (CP) atau fase kronik
- b. *Accelerated phase* (AP) atau fase akselerasi
- c. *Blast phase* (BP) atau fase *blast*

Hanya sebagian kecil pasien yang berkembang dari fase kronis ke fase akselerasi atau fase kritis *blast*. Ini dapat disebabkan karena ada perubahan genetik tambahan dalam leukemia *stem cells*. Beberapa abnormalitas kromosom tambahan ini dapat diidentifikasi dengan analisis sitogenetik. Namun, tampaknya ada perubahan genetik lainnya (rendahnya tingkat mutasi yang resistan terhadap obat yang mungkin terjadi pada saat diagnosis) dalam *stem cell* CML yang tidak dapat diidentifikasi oleh tes laboratorium.

Pada fase kronis, kurang dari 10% sel dalam darah dan sumsum tulang adalah leukosit yang belum matang (*blast*). Pasien pada fase kronis CML bisa memiliki atau tidak memiliki gejala, dan mengalami peningkatan jumlah leukosit. Ketika pasien memperoleh pengobatan, maka gejala dapat diatasi dengan cepat, jumlah leukosit kembali ke level mendekati normal, ukuran limpa mengecil, konsentrasi hemoglobin membaik, kesehatan pasien kembali pulih dan aktivitas dapat berjalan normal.

Pada fase akselerasi jumlah sel blast di darah perifer dan/ atau sumsum tulang lebih tinggi dari normal. Sel blast  $\geq 15\%$  di dalam darah perifer atau sumsum tulang,  $\geq 20\%$  basofil di darah perifer, dan trombosit  $< 100.000/\mu$ L yang tidak terkait dengan pengobatan atau perkembangan evolusi sitogenetik. Pasien CML mengalami peningkatan leukosit karena akumulasi sel-sel blast, penurunan jumlah trombosit, mungkin terjadi perubahan kromosom baru (mutasi), terjadi anemia baru atau anemia semakin memburuk, kelelahan, pembesaran limpa, dan komplikasi lainnya.

Pada fase blast terjadi peningkatan jumlah sel blast di sumsum tulang maupun darah,  $\geq 30\%$  sel blast di darah perifer atau sumsum tulang, adanya kelompok blast di sumsum atau adanya penyakit ekstramedulla dengan sel yang belum matur (misalnya sarkoma myeloid). Pasien dengan fase blast CML memiliki jumlah eritrosit, *platelet* dan neutrofil yang rendah, terjadi penyebaran sel-sel blast di luar darah dan/ atau sumsum tulang ke dalam jaringan lain, mengalami gejala seperti: kelelahan, sesak napas, sakit perut, penyakit tulang, pembesaran limpa, perdarahan, dan infeksi. Sekitar 25% pasien CML mempunyai fase blast yang sama. Perkembangan menjadi fase blast terjadi sekitar 3-5 tahun sejak diagnosis awal pasien diketahui namun tidak diobati, dengan atau tanpa fase akselerasi yang dapat diidentifikasi.

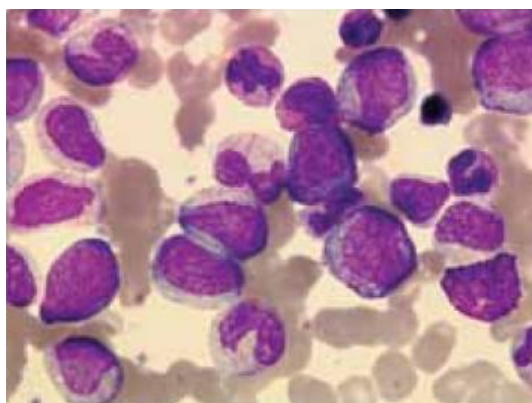
### **Diagnosis Laboratorium CML**

Untuk mendiagnosis CML diperlukan berbagai tes untuk menganalisis darah dan sel sumsum. Pada pasien CML memiliki konsentrasi hemoglobin menurun, jumlah leukosit meningkat (seringkali sangat tinggi), peningkatan atau penurunan jumlah trombosit (tergantung tingkat keparahan CML). Pada pemeriksaan hapusan darah tepi ditemukan bentuk leukosit tertentu, sel imatur (sel blast leukemik dan promyelosit)

dalam proporsi kecil, proporsi yang lebih besar dari leukosit matur dan matur sepenuhnya (mielosit dan neutrofil). Sel-sel blast, promyelosit, dan myelosit ini normalnya tidak ada dalam darah orang sehat.

Sampel untuk pemeriksaan CML dapat diperoleh dari aspirasi dan biopsi sumsum tulang untuk mencari kromosom dan perubahan sel lainnya. Sampel ini kemudian dilakukan pemeriksaan analisis sitogenetik yang berfungsi untuk mengukur jumlah dan struktur kromosom. Uji ini untuk melihat apakah ada perubahan atau kelainan kromosom, seperti kromosom Philadelphia (Ph). Adanya kromosom Ph (yang disingkat kromosom 22) dalam sel sumsum bersama dengan peningkatan leukosit, dan temuan tes darah dan sumsum khas lainnya, menegaskan diagnosis CML. Sel-sel sumsum tulang pasien CML sekitar 90% memiliki kromosom Ph yang dapat dideteksi dengan analisis sitogenetik. Sisanya tidak memiliki kromosom Ph yang terdeteksi secara sitogenetik, namun hasilnya hampir selalu positif pada pemeriksaan gen fusi BCR-ABL pada kromosom 22 dengan jenis tes lainnya. Selain itu juga bisa dilakukan pemeriksaan dengan FISH (*Fluorescence In Situ Hybridization*).

Selain menggunakan tes sitogenetik, identifikasi kromosom Ph lebih sensitif dengan menggunakan metode FISH (*Hibridisasi Fluoresensi In Situ*). FISH adalah tes kuantitatif yang dapat mengidentifikasi keberadaan gen BCR-ABL. Gen terdiri dari segmen DNA. FISH menggunakan probe warna yang mengikat DNA untuk menemukan gen BCR dan ABL dalam kromosom. Baik gen BCR dan ABL diberi label dengan bahan kimia yang masing-masing melepaskan cahaya warna yang berbeda. Warnanya muncul pada kromosom yang berisi gen yang biasanya kromosom 9 untuk ABL dan kromosom 22 untuk BCR, sehingga FISH dapat mendeteksi bagian kromosom 9 yang telah berpindah ke kromosom 22 dalam sel CML. Gen fusi BCR-ABL ditunjukkan oleh warna yang tumpang tindih dari dua probe. Karena tes ini dapat mendeteksi BCR-ABL dalam sel yang ditemukan dalam darah, tes ini dapat digunakan untuk menentukan apakah ada penurunan yang signifikan dalam jumlah sel CML yang beredar sebagai hasil dari pengobatan pasien CML. Gen BCR-ABL juga dapat dideteksi secara molekuler. Gen BCR-ABL juga dapat dideteksi dengan analisis molekuler. Tes PCR kuantitatif merupakan metode pengujian molekuler paling sensitif yang tersedia. Tes ini dapat dilakukan dengan sel darah atau sumsum tulang. Tes PCR pada dasarnya meningkatkan atau "memperkuat" sejumlah kecil potongan RNA atau DNA tertentu agar lebih mudah dideteksi dan diukur. Jadi, kelainan gen BCR-ABL dapat dideteksi oleh PCR bahkan ketika terdapat dalam jumlah sel yang sangat rendah. Sekitar satu sel abnormal dalam satu juta sel dapat dideteksi dengan pengujian PCR.



**Gambar 5.4** Maturasi neutrofil pada CML (Ciesla, 2007)

#### **5.4 Chronic Lymphoblastic Leukemia (CLL)**

Leukemia Limfositik Kronis (CLL) merupakan leukemia limfoid sel B monoklonal yang ditandai dengan akumulasi sel ganas yang matur secara fenotipik tetapi tidak kompeten secara imunologis dalam darah perifer, sumsum tulang dan jaringan limfatik seperti kelenjar getah bening, limpa dan hati. Ini adalah penyakit heterogen klinis dan molekuler yang tidak dapat disembuhkan meskipun kemajuan biomolekuler



meningkat dalam beberapa dekade terakhir. Sebagian besar pasien tidak menunjukkan gejala dan didiagnosis baik secara kebetulan selama pemeriksaan laboratorium rutin atau setelah evaluasi limfadenopati atau splenomegali. Evolusi dan kelangsungan hidup penyakit sangat bervariasi, beberapa pasien meninggal dalam waktu 2 tahun dari perjalanan progresif cepat dan komplikasi, sementara yang lain memiliki kelangsungan hidup rata-rata sesuai dengan usia normal dan akan mati karena penyebab yang tidak terkait dengan leukemianya.

CLL adalah leukemia yang paling umum terjadi pada orang dewasa di dunia barat dibandingkan dengan jenis leukemia lainnya (Tabel 5.4)

**Tabel 5.4** Prevalensi leukemia di Amerika Serikat tahun 1975-2012

Tipe	Prevalensi
Acute Lymphoblastic Leukemia	68.728
Chronic Lymphocytic Leukemia	126.299
Acute Myeloid Leukemia	37.726
Chronic Myeloid Leukemia	33.990

(Samra & Hay, 2016)

CLL sebagian besar merupakan penyakit lanjut usia dan menurut American Cancer Society (ACS), usia rata-rata saat diagnosis adalah 71 tahun dan usia rata-rata saat meninggal adalah 79 tahun. Sekitar 70% pasien didiagnosis pada usia 65 tahun atau lebih dan hanya 9% antara 45 dan 54 tahun. CLL paling dominan pada orang Kaukasia dan jarang terlihat pada orang Hispanik dan Asia. Insiden rendah yang terlihat di Asia tidak meningkat di kalangan imigran yang telah bermigrasi ke dunia barat menunjukkan kemungkinan kecenderungan genetik dalam pembentukan penyakit. Penelitian juga menunjukkan insidensi CLL yang lebih rendah pada orang Afrika-Amerika. CLL merupakan jenis leukemia yang paling umum pada orang dewasa, dan jarang terjadi pada anak-anak. Sel CLL sering menumpuk perlahan selama bertahun-tahun. Sel-sel ini memiliki tingkat kelangsungan hidup yang lebih lama dibandingkan dengan sel normal dan, seiring waktu, mereka mengeluarkan sel-sel normal. Tingkat kelangsungan hidup umumnya selama lima tahun sekitar 80% pada pria dan 85% pada wanita. Tidak ada obat untuk mengobati CLL, namun ada pengobatan yang membantu mengelola penyakitnya.

#### **Gejala Klinis CLL**

Banyak pasien leukemia limfositik kronis tidak memiliki gejala awal. Mereka yang mengembangkan tanda dan gejala akan mengalami: pembengkakan kelenjar getah bening, pendarahan hidung, mudah berdarah, kelelahan, kehilangan nafsu makan, demam, infeksi parah, pembesaran limpa atau hati, berkeringat di malam hari, penurunan berat badan yang tidak bisa dijelaskan, penyakit tulang, dan anemia.

Pada 95 % pasien CLL terjadi perubahan pada limfosit B. sedangkan pada 5 % pasien CLL lainnya, sel yang berubah dari normal menjadi leukemia memiliki fitur limfosit T atau sel *Natural Killer* (NK) . Dengan demikian, salah satu dari tiga jenis utama limfosit (sel T, sel B atau sel NK) dapat mengalami transformasi ganas yang menyebabkan penyakit yang berhubungan dengan CLL sel-B. Setelah sel sumsum mengalami perubahan leukemik, ia berkembang menjadi banyak sel. Sel CLL tumbuh dan bertahan lebih baik dari sel normal. Seiring waktu, sel-sel abnormal tersebut mengeluarkan sel-sel normal. Hasilnya adalah pertumbuhan sel-sel CLL yang tidak terkendali dalam sumsum, yang menyebabkan peningkatan jumlah sel-sel CLL dalam darah. Sel-sel leukemia yang menumpuk di sumsum tulang belakang pada pasien CLL tidak mencegah produksi sel darah normal sebanyak yang terjadi pada leukemia limfoblastik akut. Ini adalah perbedaan penting sehingga awal diagnosis CLL umumnya kurang parah. Beberapa orang memiliki penyakit yang berkembang lambat. Pasien dengan perubahan minimal jumlah sel darah mereka (peningkatan limfosit dan sedikit atau tidak ada penurunan eritrosit, jumlah neutrofil dan trombosit yang normal) mungkin memiliki penyakit yang stabil selama bertahun-tahun. Orang lain dengan CLL memiliki bentuk penyakit yang tumbuh lebih cepat, sel-sel CLL menumpuk di sumsum tulang dan darah, dan ada penurunan jumlah



eritrosit dan trombosit yang signifikan. Pasien CLL yang perkembangannya lebih cepat, kemungkinan mengalami pembesaran kelenjar getah bening yang dapat menyebabkan kompresi organ didekatnya, misalnya, pembesaran kelenjar getah bening di perut dapat mengganggu fungsi saluran pencernaan dan/ atau saluran kemih. Selain itu juga dapat mengalami Kekurangan imunoglobulin yang parah, kadang-kadang ditambah dengan penurunan jumlah neutrofil yang dapat menyebabkan infeksi berulang. Serta terjadinya pembesaran limpa yang dapat menekan perut menyebabkan rasa kenyang saat makan makanan dan juga ketidaknyamanan di bagian kiri atas perut.

### **Diagnosis Laboratorium CLL**

CLL adalah penyakit heterogen monoklonal yang berbeda dalam aktivasi, maturasi dan subgrup seluler, dan ditandai oleh variabilitas klinis dan imunofenotipikal yang tinggi (antara pasien yang berbeda dan pada pasien yang sama melalui perjalanan penyakit). Penemuan penanda molekuler dan protein yang lebih baru membantu mengklasifikasikan pasien dengan lebih baik yang diketahui mengikuti program klinis yang berbeda walaupun dikelompokkan dalam kategori risiko rendah/ menengah dan memberikan petunjuk untuk terapi yang tepat dan efektif yang diharapkan akan mengubah riwayat alami penyakit yang saat ini tidak dapat disembuhkan. Beberapa faktor prognostik telah diidentifikasi dapat mempengaruhi perkembangan penyakit dan prognosis sehingga dapat diandalkan pada pilihan pengobatan awal. Beberapa penanda telah dikaitkan dengan perkembangan penyakit dan kelangsungan hidup yang meliputi:  $\beta 2$ -microglobulin (B2M), *Lactate Dehydrogenase* (LDH), serum timidin kinase dan CD23 yang larut. LDH telah diidentifikasi sebagai fitur prognostik yang buruk dan kadar yang tinggi dikaitkan dengan transformasi tingkat yang lebih tinggi yang dikenal sebagai transformasi Richter.

Diagnosis CLL paling sering insidental, baik setelah deteksi leukositosis pada tes darah rutin atau setelah evaluasi limfadenopati asimtomatik, yang secara spontan bertambah dan berkurang tanpa menghilang sama sekali. Di sisi lain, 20% pasien akan datang dengan beberapa atau semua gejala B (demam, keringat malam yang banyak tanpa infeksi, penurunan berat badan lebih dari 10% selama 6 bulan). Limfadenopati mungkin terlokalisasi atau generalisasi, dengan variasi ukuran, tetapi biasanya keras, tidak nyeri tekan dan bergerak pada palpasi walaupun dapat menyebabkan kepenuhan perut dan kelelahan pada beberapa kasus karena ukuran besar. Splenomegali dan hepatomegali sering ditemukan hingga 20% pada diagnosis awal. Kadar B2M yang tinggi berhubungan dengan peningkatan beban tumor dan *Progression-Free Survival* (PFS) yang lebih pendek. Sebuah analisis regresi Cox multivariabel dari studi prospektif yang dilakukan oleh kelompok CLL Jerman (termasuk 1948 pasien) mengidentifikasi 8 faktor prognostik independen yang dikaitkan dengan *Overall Survival* (OS), yaitu jenis kelamin, usia, status ECOG, del (17p), del (11q), Status mutasi IGHV, serum  $\beta 2$ -mikroglobulin, dan serum timidin kinase. Serum timidin kinase yang meningkat juga berkaitan dengan penyakit yang lebih agresif, gen *Immunoglobulin Heavy Chain Variable* (IGHV) yang tidak bermutasi dan waktu penggandaan Limfosit yang lebih pendek. Peningkatan kadar timidin kinase serum mempengaruhi respons terhadap terapi dan tingkat kelangsungan hidup. Juga pasien dengan kadar CD23 serum yang lebih tinggi pada tahap awal ditemukan memiliki risiko lebih tinggi terhadap pengembangan penyakit CLL.

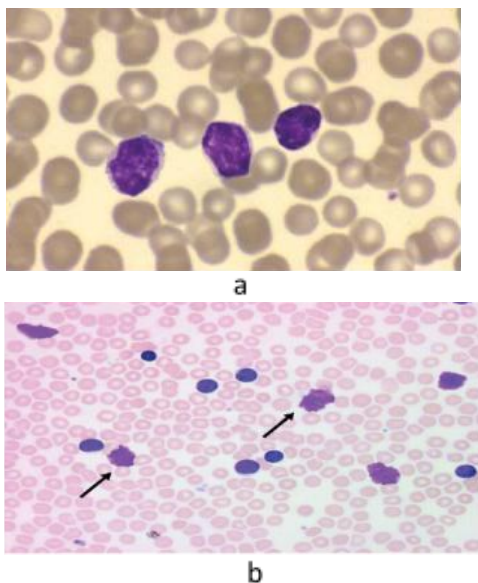
Evaluasi pasien baru dengan CLL harus meliputi: anamnesis (termasuk gejala konstitusional dan riwayat keluarga CLL atau kelainan limfoproliferatif), pemeriksaan fisik (palpasi kelenjar getah bening hati, hati dan limpa). Pemeriksaan laboratorium darah lengkap dengan *differential counting*, pemeriksaan kimia klinik seperti laktat dehidrogenase, bilirubin, serum imunoglobulin, *Direct Antiglobulin Test* (DAT), pemeriksaan hapusan darah tepi dengan *flow cytometry* sangat penting untuk mengkonfirmasi klonalitas dan imunofenotipe CLL. Stadium klinis tidak memerlukan studi *imaging*. Scan PET dan/ atau biopsi kelenjar getah bening direkomendasikan dalam evaluasi massa nodus besar yang dicurigai merupakan transformasi Richter. Meskipun sumsum tulang selalu terlibat dalam CLL, aspirasi sumsum tulang dan/ atau biopsi tidak diperlukan untuk diagnosis. Mereka bermanfaat untuk *karyotyping* dan analisis sitogenetik serta direkomendasikan dalam kasus-kasus kesulitan diagnosis (seperti sitopenia yang mungkin disebabkan oleh

infiltrasi sumsum tulang, atau temuan yang menunjukkan transformasi Richter) atau sebelum memulai pengobatan. CLL adalah penyakit darah perifer, sumsum tulang dan jaringan limfoid,

CLL adalah penyakit darah tepi, sumsum tulang dan jaringan limfoid yang ditandai dengan akumulasi limfosit monoklonal matur, setidaknya  $5 \times 10^9$  limfosit/L dalam darah tepi. Sel-sel leukemia pada hapusan tepi pasien CLL secara khas kecil, limfosit matur dengan batas sempit sitoplasma dan nukleus padat yang tidak memiliki nukleolus yang dapat dilihat dengan kromatin terkondensasi. Ciri patognomonik adalah adanya "*smudge cells*" yang dihasilkan dari sisa limfosit yang rapuh ketika mempersiapkan hapusan darah tepi (Gambar 5.5).

Ada beberapa tingkatan leukemia limfoblastik kronis. Pasien pada stadium 0 berisiko rendah, pasien pada stadium I atau II berada pada risiko menengah, dan berisiko tinggi pada tahap III atau IV. Tahapan CLL, yaitu:

- Tahap 0: Ada terlalu banyak limfosit yang ditemukan di darah. Kelenjar getah bening tidak bengkak, eritrosit dan trombosit normal.
- Tahap I: Ada terlalu banyak limfosit yang ditemukan di darah dan kelenjar getah bening lebih besar dari normal.
- Stadium II: Ada terlalu banyak limfosit yang ditemukan di darah, hati atau limpa membesar, dan kelenjar getah bening dapat membesar.
- Stadium III: Ada terlalu banyak limfosit yang ditemukan di darah dengan terlalu sedikit eritrosit. Kelenjar getah bening, hati atau limpa mungkin lebih besar dari normal.
- Tahap IV: Ada terlalu banyak limfosit yang ditemukan di darah dengan trombosit terlalu sedikit dan kemungkinan terlalu sedikit eritrosit dalam darah. Hati atau limpa mungkin membesar



**Gambar 5.5** Hapusan darah tepi pada pasien CLL: (a) Limfosit yang tampak matur dengan kromatin padat, sedikit sitoplasma, dan tidak adanya nukleolus. (b) *Smudge cells* (Smara & Hay, 2015)