

LAPORAN PENELITIAN

Hubungan Antibodi Anti Trombosit terhadap Respon Transfusi Trombosit pada Pasien Hemato-Onkologi yang Mendapatkan Multitransfusi Trombosit di RS Dr. Cipto Mangunkusumo

Anna Mira Lubis¹, Aru W Sudoyo¹, Shufrie Effendy¹, TB Djumhana¹, Kuntjoro¹

¹Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/ Rumah Sakit dr. Cipto Mangunkusumo, Jakarta

ABSTRAK

Pendahuluan. Multitransfusi donor *random* dan paparan terhadap konsentrat trombosit yang termasuk *non-leukocyte depleted* diketahui sebagai faktor risiko terjadinya alloimunisasi (HLA dan HPA) yang dapat menjadi salah satu penyebab kegagalan transfusi. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai hubungan antibodi anti trombosit tersebut dengan kegagalan respon transfusi trombosit pada pasien hemato-onkologi sehingga dapat dilakukan metode seleksi donor dan *crossmatching* trombosit donor dan resipien.

Metode. Studi observasional dilakukan pada pasien hemato-onkologi dewasa yang mendapatkan multitransfusi trombosit di Rumah Sakit dr Cipto Mangunkusumo (RSCM) Jakarta. Pengamatan dilakukan pada respon transfusi dengan mengukur *corrected count increment* (CCI) 1 jam post transfusi dengan batas 7.500 m²/mL. Keadaan lain yang dapat mempengaruhi CCI dieksklusi dari penelitian. Antibodi (Ig G) dideteksi dari serum pre transfusi terhadap antigen HLA kelas 1, epitop GP IIb/IIIa, Ib/IX dan Ia/IIa dengan teknik ELISA secara kualitatif. Pengukuran ini menggunakan kit ELISA komersial Pak-2 LE. Analisis statistik dilakukan dengan uji *chi-square* dan regresi logistik untuk ditentukan PR dengan IK 95%.

Hasil. Selama periode Maret–Juni 2008 terkumpul 36 transfusi yang diberikan pada 21 pasien dengan berbagai diagnosis hemato-onkologi. Sebanyak 33,3% memberikan respon transfusi yang tidak memuaskan (CCI <7.500). Dari seluruh transfusi, ditemukan antibodi HLA kelas 1 positif sebanyak 38,9% dari pasien, sedangkan antibodi GP IIb/IIIa hanya ditemukan pada 1 orang (2,8%). Didapatkan hubungan antara antibodi HLA kelas 1 dan kegagalan respon transfusi dengan nilai PR 4,7 (IK 95% 1,535–14,474, p=0,003) dan *adjusted* PR 11,4 (IK 95%, 2,219–58,557, p=0,004)

Simpulan. Pasien yang memiliki antibodi HLA kelas 1, memiliki kecenderungan kegagalan transfusi trombosit 11,4 kali lebih besar. Namun, hubungan antibodi GP IIb/IIIa dengan respon transfusi belum dapat ditentukan, sehingga dibutuhkan studi lanjutan dengan sampel yang lebih besar.

Kata Kunci : Antibodi anti trombosit, CCI 1 jam post transfusi, multitransfusi.

PENDAHULUAN

Terapi transfusi trombosit mengalami perkembangan yang amat pesat dalam 20 tahun terakhir, baik perkembangan dari segi teknik preparasi maupun penyimpanan. Saat ini transfusi trombosit (baik *random* donor multipel maupun donor tunggal trombosit *apheresis*) meningkat dengan tajam. Terjadinya peningkatan pemakaian trombosit diakibatkan oleh beberapa hal. Pada pasien-pasien hematologi onkologi misalnya, terapi transplantasi sumsum tulang dan program kemoterapi yang agresif menyebabkan meningkatnya kebutuhan transfusi trombosit sebagai terapi suportif.

Pasien–pasien trombositopeni kronik dengan gangguan produksi trombosit merupakan tantangan dalam pemberian transfusi trombosit. Hal tersebut bukan hanya

disebabkan oleh kuantitas trombosit yang dibutuhkan, tetapi juga kebutuhan akan trombosit yang kompatibel. Kebutuhan yang kompatibel tersebut disebabkan tingginya kekerapan alloimunisasi terhadap trombosit.^{1,2}

Data dari penelitian sebelumnya mendapatkan, dari sejumlah transfusi trombosit, sebanyak 24-44% gagal mencapai respon yang memuaskan. Hal ini dapat disebabkan oleh: faktor non imunologis (63-67%) yang menyebabkan menurunnya survival trombosit seperti sepsis, hepatosplenomegali, perdarahan hebat, Koagulasi Intravaskular Diseminata, atau pemberian obat-obatan tertentu; faktor imunologis (18-25%) yang menyebabkan destruksi trombosit yang ditransfusikan melalui mediasi antibodi akibat alloimunisasi terhadap *Human Leukocyte Antigen* (HLA), antigen yang terdapat pada sel darah

putih dan trombosit; atau keduanya.^{1,3,4} Weiner dan Kao⁵ mendapatkan sebanyak 20-60% dari pasien-pasien hematologi yang memerlukan transfusi trombosit reguler, gagal mencapai peningkatan trombosit post transfusi yang adekuat dan diduga terjadi transfusi trombosit refrakter.

Crossmatching trombosit terbukti bermanfaat bagi pasien yang menjalani multitransfusi dengan hipoplasia sumsum tulang yang mengalami transfusi trombosit refrakter melalui proses alloimunisasi. Studi yang dilakukan oleh Daniel dkk⁶ menguji *crossmatching* trombosit secara *Enzyme-Linked Immunospecific Assay* (ELISA) terhadap pasien-pasien yang menerima trombosit dari donor tunggal dan dihubungkan dengan respon transfusi trombosit. Hasil menunjukkan teknik pemeriksaan ini dapat menjadi prediktor respon transfusi dengan sensitivitas 85%, spesifisitas 96% dan prediktif sebanyak 95,6%.

Pada pasien yang mengalami alloimunisasi HLA, donor trombosit yang kompatibel umumnya didapatkan melalui seleksi HLA *matching* antara donor dan resipien. Namun pemeriksaan tersebut sangat mahal karena membutuhkan tipe HLA donor yang luas yang selalu harus di *update*. Selain itu, didapatkan data bahwa sebanyak 13-31% transfusi trombosit yang *HLA-matched* ternyata gagal mencapai peningkatan trombosit post transfusi yang memuaskan. Salah satu pendekatan yang dapat digunakan untuk menyeleksi donor trombosit dari random donor yaitu dengan menggunakan test *crossmathing* trombosit menggunakan teknik ELISA yang cukup sensitif, cepat dan murah. Studi oleh Sintnicolaas dkk⁷ pada pasien-pasien keganasan hematologi yang mengalami alloimunisasi menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan trombosit rekoveri baik pada 1 jam dan 16 jam post transfusi antara kelompok yang *crossmatching* trombosit (ELISA) negatif dan kelompok transfusi yang *HLA-matched*, dan signifikan lebih baik dibandingkan pada kelompok dengan random donor multipel tanpa seleksi donor.

Mengingat terdapat risiko terjadinya alloimunisasi pada pasien-pasien yang mendapatkan multitransfusi trombosit, khususnya pada pasien dengan kelainan hemato-onkologi, maka penting untuk mengetahui respon transfusi dan hubungan antibodi yang terbentuk terhadap respon transfusi trombosit yang diberikan. Dengan demikian, diharapkan dapat dilakukan metode seleksi donor melalui suatu pemeriksaan kompatibilitas dan *crossmtaching* trombosit antara donor dan resipien untuk optimalisasi respon transfusi. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh kejadian alloimunisasi pada pasien hemato-onkologi yang

mendapatkan multitransfusi trombosit terhadap respon transfusi trombosit.

METODE

Penelitian ini merupakan studi observasional yang dilakukan di unit rawat jalan (poliklinik) Divisi Hematologi Onkologi Medik, unit Transplantasi Sumsum Tulang (TST), Unit Rawat Inap Departemen Ilmu Penyakit Dalam dan Instalasi Gawat Darurat (IGD) Rumah Sakit dr. Cipto Mangunkusumo (RSCM) Jakarta dalam kurun waktu 4 bulan dari bulan Maret–Juni 2008. Total sampel pada penelitian ini adalah 36 transfusi yang dipilih dengan teknik *consecutive sampling*.

Pasien yang memenuhi kriteria inklusi dan tidak memenuhi kriteria eksklusi diikutkan dalam penelitian setelah menandatangani *inform consent*. Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah: 1) pasien berusia 18-60 tahun; 2) memiliki riwayat transfusi trombosit sebelumnya, baik dari random donor multipel maupun donor tunggal apheresis; 3) jarak minimal dengan transfusi sebelumnya bila riwayat transfusi sebelumnya 1 kali adalah 2 minggu, sedangkan bila riwayat transfusi sebelumnya ≥ 2 kali, jarak minimal adalah 3 hari; 4) telah terdiagnosis penyakit hematol-onkologi berdasarkan kriteria diagnosis yang dipakai. Kriteria eksklusi pada penelitian ini yaitu: 1) pasien dengan penyakit autoimun (SLE, ITP); 2) pasien dengan septikemia; 3) menggunakan obat-obatan yang dapat menyebabkan antibodi terhadap trombosit maupun trombositopenia (vancomysin, amphoterasin B, heparin); 4) mendapatkan terapi *antithymocyte* globulin; 5) mengalami Koagulasi Intravaskular Diseminata; dan 6) menderita sirosis hepatitis. Sementara itu, pasien yang mengalami reaksi akut transfusi, sehingga transfusi terpaksa dihentikan, di *drop out* dan tidak dimasukkan dalam data yang dianalisis.

Instrumen pengumpulan data berupa lembar data penelitian yang mencatat karakteristik subyek, pemeriksaan fisik dan pemeriksaan laboratorium pre dan post transfusi trombosit. Metode pemeriksaan antibodi terhadap trombosit meliputi preparasi serum dan *indirect* ELISA.

Preparasi serum

Sebanyak 3-5 cc darah beku resipien, disentrifugasi pada 4000 rpm selama 15 menit sebanyak 2 kali. Supernatan yang didapat disimpan dalam bentuk aliquot menggunakan tabung *appendorf* dan disimpan pada suhu -20°C untuk selanjutnya digunakan pada pemeriksaan *Indirect* ELISA.

Indirect ELISA

Pemeriksaan ELISA menggunakan kit ELISA komersial GTI Pak-2 LE yang sudah ditandai oleh antigen HLA kelas 1, epitop glikoprotein trombosit IIb/IIIa, Ib/IX dan Ia/IIa.

Selanjutnya, data yang telah diklarifikasi keabsahannya dianalisis menggunakan piranti lunak SPSS versi 16.0. Analisis bivariat dinilai dengan uji *chi square* untuk 2 kelompok tidak berpasangan. Batas kemaknaan yang digunakan yaitu sebesar 5% dan interval kepercayaan 95%.

HASIL

Selama periode Maret-Juni 2008, di RSCM, terkumpul 36 transfusi trombosit yang diberikan kepada 21 pasien dewasa dengan diagnosis kelainan hematologi. Subjek terdiri dari 14 perempuan (66,7%) dan 7 lelaki (33,3%). Sebanyak 42,9% (9 dari 21) pasien berada pada kelompok rentang usia 18-30 tahun, serta sebanyak 10 dari 14 (71,4%) pasien perempuan memiliki riwayat kehamilan sebelumnya. Dari seluruh pasien tersebut, anemia aplastik merupakan diagnosis kelainan hematologi terbanyak yaitu 57,1%. Pasien dengan anemia aplastik ini bersedia berpartisipasi dalam penelitian pada lebih dari 1 tindakan transfusi yang diterimanya, sehingga didapatkan total transfusi 36. Seluruh subyek dapat menyelesaikan penelitian dan tidak ada subyek yang mengalami *drop out*. Karakteristik subjek penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.

Dari seluruh pasien yang mendapatkan multitransfusi trombosit, didapatkan deteksi Antibodi (Ig G) terhadap HLA kelas 1 yang positif pada 14 transfusi (38,9%). Satu pasien (2,8%) dengan alloantibodi terhadap HLA kelas 1 juga memiliki antibodi terhadap epitop glikoprotein trombosit, yaitu antibodi terhadap epitop glikoprotein IIb/IIIa, sedangkan antibodi terhadap epitope glikoprotein Ib/IX dan Ia/IIa, seluruhnya negative (Tabel 2).

Dari 36 transfusi trombosit yang diberikan, ditemukan antibodi terhadap HLA kelas 1 pada 14 transfusi (38,8%). Pada kelompok transfusi dengan antibodi HLA kelas 1 yang positif, 64,2% (9 dari 14) transfusi, memberikan respon yang tidak memuaskan, yaitu CCI 1 jam post transfusi <7500. Didapatkan adanya hubungan antara antibodi HLA kelas 1 dengan respon transfusi trombosit ($p=0,003$) dengan *Prevalence Ratio* (PR) 4,7 (IK 95% 1,535 – 14,474). Antibodi terhadap epitop GP IIb/IIIa hanya ditemukan pada 1 dari 36 (2,8%) transfusi yang diberikan. Antibodi ini ditemukan pada pasien dengan alloimunisasi HLA kelas 1. Tidak didapatkan hubungan antara antibodi epitop GP IIb/IIIa dan CCI 1 jam post transfusi ($p=0,333$) dengan nilai PR 3,182 (IK 95% 1,951–5,190) (Tabel 3). Sementara

itu, untuk antibodi terhadap epitop glikoprotein Ib/IX dan Ia/IIa, karena tidak satupun transfusi dengan deteksi terhadap kedua epitop tersebut yang positif, maka tidak dianalisis pada penelitian ini.

Penelitian ini juga menganalisis faktor nonimunologis terhadap respon transfusi trombosit yaitu perdarahan dan suhu tubuh. Seperti dapat dilihat pada Tabel 1, hanya sebesar 27,8% transfusi yang diberikan pada pasien dengan perdarahan mayor. Sebanyak 40% transfusi yang diberikan pada subyek dengan perdarahan mayor gagal mencapai respon transfusi yang memuaskan, sedangkan transfusi yang diberikan pada subyek dengan perdarahan minor, sebanyak 30,7% transfusi gagal mencapai respon transfusi yang memuaskan (CCI <7500). Berdasarkan hasil analisis pada Tabel 4, tidak didapatkan hubungan antara perdarahan dengan CCI 1 jam post transfusi ($p=0,7$) dengan nilai PR=1,3 (IK 95%, 0,501–3,372). Sementara itu terkait suhu, pada transfusi yang diberikan pada suhu $\geq 38^{\circ}\text{C}$ dan $< 38^{\circ}\text{C}$, jumlah yang gagal mencapai respon transfusi yang memuaskan masing-masing 25% dan 34,3%. Hasil analisis menunjukkan tidak ada hubungan suhu dan CCI 1 jam post transfusi ($p\text{ value}= 1$) dengan nilai PR= 0,727 (IK 95%, 0,125–4,242).

Oleh karena faktor non-imun yang secara substansi diketahui sebagai salah satu faktor risiko kegagalan transfusi trombosit pada penelitian ini tidak dapat dihilangkan, yaitu perdarahan dan suhu, maka kedua hal tersebut akan dinilai dan dianalisis pada penelitian ini dengan melakukan analisis multivariat menggunakan regresi logistik. Berdasarkan hasil uji regresi logistik terhadap variabel-variabel imunologis dan nonimunologis, didapatkan bahwa pasien dengan antibodi (Ig G) HLA kelas 1 yang positif dengan disertai antibodi (Ig G) GP IIb/IIIa yang positif, perdarahan mayor dan suhu $\geq 38^{\circ}\text{C}$, memiliki kecenderungan untuk mengalami kegagalan transfusi trombosit 9,8 kali, dibandingkan dengan pasien yang hanya memiliki antibodi HLA kelas 1 saja. (Adjusted PR 9,862; IK 95% 1,855–52,436; $p=0,007$) (Tabel 5).

Melalui uji Regresi logistik dengan metode *Backward Stepwise*, setelah mengeluarkan faktor non imunologis, dan antibodi GP IIb/IIIa, didapatkan bahwa pasien dengan Antibodi HLA kelas 1 memiliki risiko kegagalan transfusi trombosit sebanyak 11,4 kali dibandingkan dengan pasien dengan Antibodi HLA kelas 1 yang negatif (Adjusted PR 11,4; IK 95% 2,219-58,557; $p=0,004$).

Tabel 1. Karakteristik subyek penelitian

Variabel	Keterangan
Jenis Kelamin n=21	
Perempuan	14 (66,7%)
Laki-laki	7 (33,3%)
Umur (tahun) n=21 Rerata (SB)	
Kelompok Umur	35,5 (12,91)
18-30	9 (42,9%)
31-45	7 (33,3%)
45-60	5 (23,8%)
Diagnosis n=21	
Anemia Aplastik	12 (57,1%)
MDS	3 (14,3%)
Leukimia Akut	4 (19%)
Leukimia Kronik	2 (9,5%)
Kehamilan n=14	
Ya	10 (71,4%)
Tidak	4 (28,6%)
Transfusi Sebelumnya n=36	
1-5	20 (55,6%)
6-10	6 (16,7%)
11-25	10 (27,8%)
Sumber Trombosit n=36	
Donor <i>multiple</i>	36 (100)
Donor tunggal	0 (0)
Jenis Trombosit n=36	
LD	3 (8,3%)
NLD	15 (41,7%)
Campuran	18 (50%)
Perdarahan n=36	
Minor	26 (72,2%)
Mayor	10 (27,8)
Suhu (°C) n=36	
<38	32 (88,9%)
≥38	4 (11,1%)
Riwayat TST n=36	
Tidak	36 (100%)
Ya	0 (0%)
Splenomegali n=36	
Tidak	36 (100%)
Ya	0 (100%)
Lama Simpan Trombosit (jam) n=36	
<72	33 (91,7%)
≥72	2 (5,6%)
campuran	1 (2,8%)
CCI 1 jam n=36 Rerata (SB)	
Kelompok CCI 1 jam	14950 (13239,9)
<7500	12 (33,3%)
≥7500	24 (66,7%)

TST=transplantasi sumsum tulang, LD=Leukocyte Depleted, NLD=Non-LeukocyteDepleted, CCI=Corrected Count Increment.

Tabel 2. Hasil pemeriksaan antibodi melalui indirect ELISA

	Ig G anti HLA kelas 1	Ig G anti epitop GP IIb/IIIa	Ig G anti epitop GP Ib/IX	Ig G anti epitop GP Ia/IIa
Positif	14 (38,9%)	1 (2,8%)	0	0
Negatif	22 (61,1%)	35 (97,2%)	36 (100%)	36 (100%)
Total	36 (100%)	36 (100%)	36 (100%)	36 (100%)

Tabel 3. Hubungan antibodi dan CCI 1 jam post transfusi

Jenis Antibodi	CCI < 7500	CCI ≥ 7500	Jumlah	P value
HLA kelas 1				
HLA 1+	9 (64,3%)	5 (35,7%)	14 (100%)	0,003
HLA 1-	3 (13,6%)	19 (86,4%)	22 (100%)	
Epitop GP IIb/IIIa				
GP IIb/IIIa +	1 (100%)	0 (0%)	1 (100%)	0,333
GP IIb/IIIa -	11 (31,4%)	24 (68,6%)	35 (100%)	

Tabel 4. Faktor nonimunologis dan CCI 1 Jam Post Transfusi

Faktor nonimunologis	CCI <7500	CCI ≥7500	Jumlah	p value
Perdarahan				
Mayor	4 (40%)	6 (60%)	10 (100%)	0,7
Minor	8 (30,8%)	18 (69,2%)	26 (100%)	
Suhu tubuh				
≥38°C	1 (25%)	3 (75%)	4 (100%)	1
<38°C	11 (34,4%)	21 (65,6%)	32 (100%)	

Tabel 5. Hasil analisis multivariat antibodi HLA Kelas 1, antibodi GP IIb/IIIa, perdarahan dan suhu terhadap CCI

	CCI <7500	CCI ≥7500	Adjusted PR	IK 95%	p value
Ig G anti HLA kelas 1			9,862	1,855- 52,436	0,007
Positif	9	5			
Negatif	3	19			
Ig G anti GP IIb/IIIa			1,09	0,000-7,333	1
Positif	1	0			
Negatif	11	24			
Perdarahan			1,227	0,197-7,647	0,826
Mayor	4	6			
Minor	8	18			
Suhu (oC)			1,022	0,063-16,592	0,988
≥ 38	1	3			
< 38	11	21			

DISKUSI

Faktor-Faktor Risiko Alloimunisasi pada Pasien Hemato-Onkologi yang Mendapatkan Multitransfusi Trombosit

Pada penelitian ini, diidentifikasi beberapa faktor risiko terjadinya alloimunisasi pada pasien yang mendapatkan multitransfusi trombosit, yaitu riwayat kehamilan (pada pasien wanita), frekuensi transfusi trombosit yang diberikan sebelumnya, sumber konsentrat trombosit dan jenis konsentrat trombosit yang diberikan. Sebanyak 21 pasien

berpartisipasi pada penelitian ini dengan 66,7% diantaranya adalah perempuan dan 71,4% diantaranya memiliki riwayat kehamilan. Pada separuh pasien perempuan yang berpartisipasi ditemukan antibodi terhadap HLA kelas 1, dengan 71,7% nya memiliki riwayat kehamilan.

Insiden imunisasi yang lebih tinggi pada pasien dengan riwayat kehamilan dibandingkan pada kelompok tanpa riwayat kehamilan maupun transfusi disebabkan adanya sel memori yang dapat diaktifkan oleh sel atau fragmen sel dengan HLA kelas 1. Kemungkinan yang lain adalah dibutuhkan jumlah *Antigen Presenting Cell* (APC) yang lebih rendah untuk mengaktifkan sel memori. Selama kehamilan, sel fetus dapat memasuki sirkulasi darah ibu (*feto-maternal transfusion*) dalam jumlah kecil. Adanya transfusi kronik dan paparan terhadap sejumlah leukosit yang berulang ini memacu sistem imun ibu selama kehamilan. Hal ini mungkin dapat menjelaskan kecenderungan antibodi HLA yang lebih tinggi pada pasien dengan riwayat kehamilan.^{8,9}

Antibodi terhadap HLA kelas 1 terdeteksi sebanyak 30% pada riwayat kehamilan 3x atau lebih. Antibodi terhadap antigen spesifik trombosit (*human platelet antigens/HPA*) masih belum banyak dideteksi. Namun demikian, telah diketahui bahwa 10% wanita dengan HPA-1b mengalami imunisasi terhadap antigen HPA-1a selama kehamilan.¹⁰

Pada penelitian ini didapatkan sebanyak 54,4% subjek penelitian memiliki riwayat transfusi sebelumnya sebanyak >5 kali. Berdasarkan beberapa studi prospektif, disebutkan bahwa alloimunisasi terjadi pada transfusi >3 kali, sedangkan pada studi lain terjadi pada transfusi >7 kali. Suatu studi prospektif yang dilakukan pada pasien leukemia untuk membandingkan manfaat pemberian trombosit non dan *leukocyte depleted* dari random donor tunggal, menunjukkan bahwa pasien dengan riwayat sensitisasi merupakan risiko tinggi terhadap kejadian alloimunisasi.¹¹ Mengurangi paparan donor dengan menggunakan donor tunggal *apheresis* dinilai dapat memperlambat kejadian alloimunisasi.^{8,12}

Seluruh konsentrat trombosit yang digunakan pada penelitian ini, berasal dari random donor multipel yang kompatibel golongan darah ABO dan Rhesus antara donor dan resipien. Studi pada 79 transfusi trombosit yang berasal dari *pooled random donor* yang diberikan pada 73 pasien kanker dengan trombositopenia, menunjukkan rendahnya nilai CCI 1 jam *post* transfusi yang dikaitkan dengan adanya antibodi limfositotoksik. Sebanyak 24% transfusi trombosit dengan peningkatan trombosit *post* transfusi yang rendah memiliki antibodi limfositotoksik <10%. Sementara 87% pasien dengan antibodi limfositotoksik >10% menunjukkan

respon transfusi yang rendah.²

Suatu studi acak prospektif pada 54 pasien leukemia akut tanpa riwayat transfusi sebelumnya yang mendapatkan terapi suportif trombosit yang berasal dari *pooled* random donor multipel, dibandingkan dengan random donor tunggal, menunjukkan hasil sebanyak 51,8% pasien yang mendapatkan transfusi trombosit donor multipel menjadi refrakter. Sementara itu, pada kelompok pasien yang mendapatkan transfusi trombosit dari random donor tunggal hanya 14,8% pasien menjadi refrakter ($p < 0,005$). Pada studi tersebut, jumlah pasien yang membentuk antibodi limfositotoksik (HLA) maupun antibodi terhadap antigen spesifik trombosit (HPA) masing-masing sebanyak 15/27 dibandingkan 4/27 ($p < 0,002$). Pembentukan antibodi tersebut berhubungan langsung dengan rendahnya CCI 1 jam *post* transfusi.¹¹

Pada penelitian ini, didapatkan data bahwa dari seluruh transfusi yang diberikan, hanya 3 dari 36 (8,3%) transfusi yang menggunakan konsentrat trombosit yang bersifat *leukocyte depleted*. Sebanyak 50% transfusi, menggunakan konsentrat trombosit yang bersifat campuran (*non/leukocyte depleted*) (Tabel 1). Studi yang dilakukan antara tahun 1983–1993 memastikan bahwa dengan penggunaan transfusi yang bersifat *leukocyte depleted*, terjadi penurunan insiden alloimunisasi HLA.⁸ Hal ini disebabkan karena dengan penggunaan produk yang bersifat *leukocyte depleted*, presentasi antigen oleh leukosit donor berkurang dan jumlah antigen HLA kelas 1 yang ditransfusikan juga berkurang.¹³

Data dari 2 studi sebelumnya menunjukkan sekitar 50% pasien dengan riwayat kehamilan yang mendapatkan transfusi yang bersifat *leukocyte depleted*, membentuk antibodi terhadap HLA. Studi *Trial to Reduce Alloimmunization to Platelets* (TRAP) menunjukkan manfaat penggunaan transfusi *leukocyte depleted* pada pasien dengan riwayat kehamilan. Pada studi ini, antibodi HLA terbentuk pada 62% pasien perempuan yang mendapatkan transfusi standar.^{8,14}

Penelitian ini tidak melakukan analisis hubungan antara faktor-faktor risiko tersebut dengan kejadian alloimunisasi. Hal tersebut dikarenakan desain penelitian yang tidak prospektif dan tidak adanya data tentang sifat konsentrat trombosit yang diberikan sebelumnya. Dengan demikian, tidak dapat diketahui kapan terbentuknya alloantibodi yang sebenarnya.

Faktor non alloimun terhadap respon transfusi trombosit

Oleh karena faktor non imun pada penelitian ini tidak dapat seluruhnya dikeluarkan, maka faktor

perdarahan dan suhu subyek penelitian turut dianalisa dan diuji kemaknaan statistiknya. Pada penelitian ini, diidentifikasi dan dianalisa beberapa faktor non alloimun yang dapat mempengaruhi respon transfusi trombosit. Beberapa faktor tersebut adalah suhu pada saat transfusi dan perdarahan.

Pada penelitian ini, sebanyak 88,9 transfusi trombosit diberikan pada pasien dengan suhu $<38^{\circ}\text{C}$. Dampak demam atau infeksi terhadap konsumsi trombosit masih diperdebatkan. Beberapa studi melaporkan peningkatan trombosit *post* transfusi menurun sebanyak 20%-40%, sedangkan pada studi lain tidak dapat membuktikan bahwa demam atau infeksi sebagai satu-satunya penyebab terganggunya respon transfusi trombosit.⁸ Studi TRAP yang menilai respon 6.379 transfusi trombosit, menunjukkan bahwa suhu $>38,4^{\circ}\text{C}$ merupakan salah satu faktor imun yang menurunkan respon transfusi.¹⁵ Studi oleh Alcorta dkk⁵, juga menunjukkan bahwa demam $\geq 38^{\circ}\text{C}$, merupakan salah satu faktor lain yang menyebabkan transfusi yang refrakter disamping antibodi HLA dengan OR 3,38.

Beratnya perdarahan pada penelitian ini dibagi menjadi dua kelompok, yaitu minor (mukokutan) dan mayor (serebral, saluran cerna, saluran kemih, paru). Sebanyak 72,2% transfusi diberikan pada pasien dengan perdarahan minor. studi TRAP menunjukkan perdarahan sedang-berat secara bermakna menurunkan respon transfusi trombosit dengan *Hazard Ratio* 2.¹⁶

Faktor Alloimun Terhadap Respon Transfusi Trombosit

1. Antibodi HLA Kelas 1

Antibodi HLA kelas 1 ditemukan pada sebanyak 38,8% transfusi trombosit pada penelitian ini. Jumlah ini tidak jauh berbeda dari studi prospektif oleh Alcorta dkk⁵ terhadap 52 pasien yg mengalami transfusi trombosit refrakter. Hasil studi tersebut mendapatkan adanya antibodi terhadap HLA pada 31% pasien melalui pemeriksaan *microlymphocytotoxicity assay* dan tidak satupun terdeteksi antibodi terhadap HPA. Risiko terjadinya transfusi refrakter pada pasien dengan antibodi HLA positif sangat besar. Dari penelitian tersebut didapatkan Adjusted OR 50,7. Pada studi TRAP, ditemukan sebanyak 27% pasien yang mendapatkan transfusi trombosit multipel menjadi refrakter. Analisis statistik mendapatkan bahwa terdapat hubungan antara antibodi HLA dengan respon transfusi yang tidak memuaskan dengan *Hazard Ratio* 3,48.

Deteksi antibodi HLA kelas 1 pada penelitian ini dilakukan dengan pemeriksaan secara ELISA dan

bersifat kualitatif. Sampai saat ini, antibodi terhadap HLA kelas 1 merupakan penyebab alloimun tersering terjadinya transfusi trombosit yang refrakter. Hasil analisis menunjukkan bahwa dari 14 pasien dengan antibodi HLA kelas 1 positif, sebanyak 64,3% memberikan respon transfusi yang tidak memuaskan, dengan CCI 1 jam <7500 .¹⁵ Sementara itu, dari 22 transfusi dengan deteksi antibodi HLA yang negatif, sebanyak 13,6% transfusi gagal mencapai respon transfusi yang memuaskan. Hal ini diduga disebabkan oleh faktor non imun seperti suhu dan perdarahan pada subjek penelitian, kualitas trombosit yang diberikan dan cara pemberian yang tidak tepat. Faktor lainnya yaitu dapat pula disebabkan oleh rendahnya kadar antibodi sehingga memberikan hasil yang negatif pada pemeriksaan secara ELISA serta adanya polimorfisme antigen HLA. Hal tersebut mengingat penelitian ini menggunakan kit yang berasal dari antigen HLA luar, sehingga masih memungkinkan antibodi HLA dapat ditemukan positif dalam jumlah yang lebih besar. Oleh karena itu, sebaiknya dilakukan pemeriksaan lanjutan untuk deteksi antibodi HLA kelas 1 secara limfositotoksik *assay* dengan menggunakan panel limfosit dan trombosit donor untuk selanjutnya dinilai *Panel Reactivity Antibody* (PRA) nya. Semua faktor tersebut diatas patut dipertimbangkan dan dikaji lebih jauh.

2. Antibodi Epitop Glikoprotein Trombosit

Penelitian ini hanya dapat mendeteksi antibodi terhadap epitop glikoprotein trombosit saja, yaitu IIb/IIIa, Ib/IX, dan Ia/Iia. Hal ini disebabkan belum terdapatnya fasilitas dan alat untuk mendeteksi antibodi spesifik terhadap HPA. Hanya ditemukan 1 transfusi dengan deteksi antibodi epitop glikoprotein IIb/IIIa yang positif, yaitu pada pasien dengan alloimunisasi HLA, sedangkan terhadap epitop lainnya seluruhnya negatif. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa sebagian besar antibodi HPA ditemukan pada pasien dengan antibodi HLA yang positif dan sangat jarang ditemukan secara tersendiri.

Pada sebuah studi yang menguji antisera dari pasien yang mengalami refrakter terhadap transfusi trombosit yang berasal dari donor random, didapatkan sebanyak 23% menunjukkan reaksi dengan satu atau lebih glikoprotein membran trombosit. Novotny dkk¹⁷ mengatakan bahwa antibodi HPA ditemukan $<5\%$ pada pasien yang mengalami transfusi trombosit yang refrakter. Seperti telah disebutkan sebelumnya, penelitian ini hanya dapat menguji antibodi terhadap epitop glikoprotein, namun tidak dapat menjelaskan lebih jauh kekhususannya, sehingga tidak

dapat disimpulkan terhadap HPA mana antibodi tersebut ditujukan.

Hubungan Antibodi Terhadap Trombosit dan Respon Transfusi Trombosit

Hasil analisis menemukan bahwa respon transfusi yang tidak memuaskan, yaitu CCI 1 jam *post* transfusi <7500 ditemukan pada 33,3% transfusi. Hal ini sesuai dengan penelitian di luar negeri yang menyebutkan bahwa dari sejumlah transfusi trombosit, sebanyak 24%-44% gagal mencapai respon yang memuaskan. Penyebabnya yaitu sebanyak 18%-25% oleh faktor imunologis yaitu alloimunisasi terhadap HLA antigen dan 63%-67% disebabkan oleh faktor non imunologis yang menurunkan survival trombosit seperti sepsis, hepatosplenomegali, perdarahan berat, KID maupun akibat obat-obatan tertentu.^{1,3,4}

Berdasarkan analisis univariat antara faktor imunologis maupun non imunologis dan respon transfusi trombosit (CCI 1 jam *post* transfusi), didapatkan faktor yang berhubungan dengan kegagalan respon transfusi trombosit adalah Antibodi HLA kelas 1 yang positif pada serum resipien. Uji *fisher* menghasilkan nilai $p=0,003$ dengan PR 4,7. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya yang menemukan bahwa antibodi HLA kelas 1 merupakan penyebab utama transfusi refrakter. Perbedaan dengan penelitian sebelumnya yaitu cara deteksi antibodi yang digunakan dalam penelitian ini. Antigen HLA pada kit ELISA yang digunakan berasal dari 3 ras besar di dunia yaitu, amerika, afrika dan hispanik dengan mempertimbangkan adanya polimorfisme gen HLA. Hal tersebut memungkinkan adanya perbedaan jumlah hasil yang positif dengan kenyataan yang sebenarnya karena adanya kemungkinan antibodi yang tidak terdeteksi ditambah dengan sifat pemeriksaan yang kualitatif.

Antibodi terhadap epitop glikoprotein IIb/IIIa ditemukan hanya pada 2,8% transfusi dan tidak berhubungan dengan respon transfusi yang tidak memuaskan $p=0,333$ (Tabel 3). Angka ini sedikit lebih rendah dari penelitian-penelitian yang telah dilakukan sebelumnya. Rendahnya angka dan ketidakbermaknaan hubungan ini dapat disebabkan oleh jumlah sampel yang kecil.

Sebanyak 40% transfusi yang diberikan pada pasien dengan perdarahan mayor, memberikan respon transfusi yang tidak memuaskan. Dari uji *fisher* didapatkan tidak ada hubungan antara perdarahan dan respon transfusi dengan $p=0,7$ (Tabel 4). Studi prospektif oleh Alcorta dkk⁵, tidak menemukan hubungan antara perdarahan dan

respon transfusi, sedangkan pada studi TRAP, perdarahan berat berhubungan dengan transfusi trombosit yang refrakter. Hal ini dapat disebabkan karena perbedaan jumlah sampel, yaitu jumlah sampel pada penelitian ini relatif kecil.

Transfusi yang diberikan pada pasien dengan suhu $\geq 38^{\circ}\text{C}$ hanya sebesar 11,1% dan 25% diantaranya memberikan respon transfusi yang tidak memuaskan. Uji *fisher* mendapatkan tidak ada hubungan yang bermakna antara suhu pada saat transfusi dan respon transfusi dengan nilai $p=1$. Hasil ini berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh Alcorta dkk⁵ dan studi TRAP yang mendapatkan hasil bahwa suhu merupakan salah satu faktor yang dapat menyebabkan kegagalan transfusi dengan *Hazard Ratio* masing-masing 3,38 dan 2,12. Hal ini juga dapat diakibatkan karena besar sampel yang terlalu kecil.

Analisis multivariat faktor imunologis dan non imunologis mendapatkan bahwa pasien dengan antibodi HLA kelas 1 yang positif disertai dengan antibodi GP IIb/IIIa yang positif dan perdarahan mayor dan suhu $\geq 38^{\circ}\text{C}$ memiliki risiko kegagalan transfusi trombosit sebesar 9,862 kali (*adjusted* PR 9,862; IK 95%, 1,855–52,436; $p=0,007$). Kekuatan hubungan ini perlu dikaji dan diteliti kembali melalui penelitian lanjutan dengan besar sampel yang lebih besar. Sebab, regresi logistik dengan metode *Backward Stepwise*, setelah mengeluarkan faktor non imun dan antibodi GP IIb/IIIa, mendapatkan hubungan antibodi HLA kelas 1 dengan kegagalan transfusi cukup kuat yaitu 11,4 kali (*adjusted* PR 11,4; IK 95%, 2,219–58,557; $p=0,004$).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat hubungan antara antibodi HLA kelas 1 dengan respon transfusi trombosit. Pasien dengan antibodi HLA kelas 1 yang positif memiliki risiko untuk mengalami kegagalan transfusi sebesar 11,4 kali (*Adjusted* PR 11,4; IK 95% 2,219–58,557; $p=0,004$). Namun demikian, hubungan antara antibodi epitop GP IIb/IIIa dengan respon transfusi trombosit belum dapat ditentukan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kurz M, Greinix H, Hocker P, et al. Specificities of anti-platelet antibodies in multitransfused patients with haemato-oncological disorders. *Br J Haematol*. 1996; 95(3):564-9.
2. Slichter S J. Platelet refractoriness and alloimmunization. *Leukemia*. 1998;12(Suppl 1):S51-3.
3. Levin M, Van der Holt B, de Veld J, et al. The value of crossmatch tests and panel tests as a screening tool to predict the outcome of platelet transfusion in a non-selected haematological population of patients. *Vox Sang*. 2004; 87(4):291-8.

4. Petz L, Garraty G, Calhoun L, et al. Selecting donors of platelets for refractory patients on the basis of HLA antibody specificity. *Transfusion*. 2000; 40(12):1446-56.
5. Alcorta I, Pereira A, Ordinas A. Clinical and laboratory factors associated with platelet transfusion refractoriness: a case control study. *Br J Haematol*. 1996; 93(1):220-4.
6. Brubaker D, Duke J, Romine M. Predictive value of enzyme-linked immunoassay platelet crossmatching for transfusion of platelet concentrates to alloimmunized recipients. *Am J Haematol*. 1987; 24(4):375-87.
7. Sintnicolaas K, Sizoo J, Bolhuis R. Selection of platelet apheresis donors for alloimmunized patients by ELISA platelet crossmatch versus HLA-matching. In: Sibinga C, Kater L. *Advances in haemapheresis. Proceedings of the third international Congress of the World Apheresis Association*. Amsterdam; 1990.
8. Novotny V.M.J. Prevention and Management of Platelet Transfusion Refractoriness. *Vox Sang*. 1999;76(1):1-13.
9. Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, et al. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship : is successful pregnancy a Th 2 phenomenon? *Immunol Today*. 1993;14(7):353-6.
10. Husebekk A, Killie MK, Kjeldsen-Kragh, et al. Treatment and Prevention of alloimmune thrombocytopenias. In : *Hematology Education. The education program for the annual congress of the European Haematology Association. Education program for the 12th congress of the European Hematology Association*. Vienna, Austria, June 7-10, 2007.
11. Gmur J, Schanz U, Burger J, et al. Is Leukocyte depletion important in the prevention of alloimmunization by random single donor platelet transfusion? In: Sibinga, C, Kater, L. *Advances in haemapheresis. Proceedings of the third international Congress of the World Apheresis Association*.1990, Amsterdam.
12. Gmur J, Von felten A, Osterwalder B, et al. Delayed alloimmunization using random single donor platelet transfusion : a prospective study in thrombocytopenic patients with acute leukemia. *Blood*. 1983;62(2):473-9.
13. Immunology. In : Mintz P D. *Technical Manual*. Fifteenth edition. AABB 2005. p 265.
14. Slichter SJ. Leukocyte reduction and ultraviolet B irradiation of platelets to prevent alloimmunization and refractoriness to platelet transfusion. *N Engl J Med* 1997; 337(26): 1861-9.
15. Laporan tahunan Unit Transfusi Darah Daerah (UTDD) PMI Jakarta 2006
16. Slichter SJ, Davis K, Enright H, Braine H, Gernsheimer, et al. Factors affecting posttransfusion platelet increments, platelet refractoriness, and platelet transfusion intervals in thrombocytopenic patients. *Blood*. 2005;105(10): 4106-14.
17. Novotny VMJ, Van Doorn, Witvliet MD, et al. Occurrence of allogeneic HLA and non-HLA antibodies after transfusion of prestorage filtered platelet and red blood cells: A prospective Study. *Blood*. 1995;85(7):1736-41.