

AIHA: Aspek Serologi dan Terapi

dr. Putrasatia Irawan

Lembaga Pusat Transfusi Darah—Palang Merah Indonesia, Jakarta

Pada tahun 1946, Boorman, Dodd dan Loutit, juga Loutit & Mollison melaporkan bahwa eritrosit para penderita acquired hemolytic anemia dapat bereaksi dengan antiglobulin serum. Kemudian Dacie menemukan bahwa eritrosit para penderita AIHA (Auto—Immune—Hemolytic—Anemia) reaksinya tidak sama kuat dengan antiglobulin serum. Bila ditambah sedikit gamma globulin ke dalam antiglobulin serum, maka dapat menekan reaksi terhadap eritrosit dari AIHA type hangat (Warm AIHA), tetapi tidak mempengaruhi reaksi terhadap eritrosit dari AIHA type dingin (cold agglutinin syndrome).

Oleh karena itu dapat diketahui, auto-antibody yang melekat (sensitized) pada sel "AIHA type dingin" bukan gamma globulin, kemudian ditemukan bahwa sebetulnya hanya komplemen yang melekat pada sel AIHA type dingin tsb. Komplemen yang paling sering ditemukan ialah C_{3d}, satu bagian dari C₃, maka bila Direct Antiglobulin Test (DAT) positif dengan polyspecific antiglobulin serum harus diteruskan reaksinya dengan anti-IgG dan anti-C₃ (yang mengandung C_{3d}) untuk mendapatkan kesan pertama apakah itu zat anti dari AIHA type yang hangat atau yang dingin.

Diagnosa untuk AIHA selain dari serologi, juga didasarkan :

1. Harus dicocokkan dengan keadaan klinik, karena Direct Antiglobulin Test yang positif belum tentu pasti hemolytic anemia.
2. Pemeriksaan DAT dimulai dengan poly—specific antiglobulin serum dan diteruskan dengan mono-specific anti-IgG dan anti-C₃. Sebanyak 50% auto antibody type hangat positif dengan anti-IgG dan anti-C₃, sedangkan 30% hanya positif dengan anti-IgG dan 20% hanya positif dengan anti-C₃. Sementara itu antibody type dingin hanya positif dengan anti-C₃.
Paroxysmal cold haemoglobinuria yang disebabkan zat anti-IgG yang melekat dengan komplemen, hanya positif dengan anti-C₃, negatif dengan anti-IgG.
3. Titer agglutinasinya dari type yang dingin bisa sangat tinggi, pada 4° C (1000) bahkan bisa bereaksi pada 30° C, dapat digolongkan AIHA type dingin atau cold agglutinin syndrome.
4. Melalui screening zat anti dalam serum pasien pada suhu 20° C dan 37° C terhadap eritrosit normal dan eritrosit yang telah dikupas oleh enzyme kemudian dilihat reaksi/lysis, agglutinasinya atau non reaktif, dapat membedakan auto antibody type hangat atau type dingin.

AIHA dapat dibagi menjadi 2 kelompok :

A. AIHA type hangat (warm AIHA)

1. Primer (idiopatik)
2. Sekunder (Lymphoma, SLE, infections, carcinoma, dll)

B. AIHA type dingin (cold agglutinin syndrome)

1. Primer (idiopatik)
2. Sekunder (syphilis)

Dalam pemeriksaan serologi untuk mendapatkan diagnosa yang tidak keliru, beberapa pertanyaan dibawah ini harus jelas terjawab.

I. Apakah sel darah merah pasien telah dilekat oleh protein?

Hal ini dapat dijawab dengan dilakukannya DAT dengan poly-specific atau broad-spectrum antiglobulin.

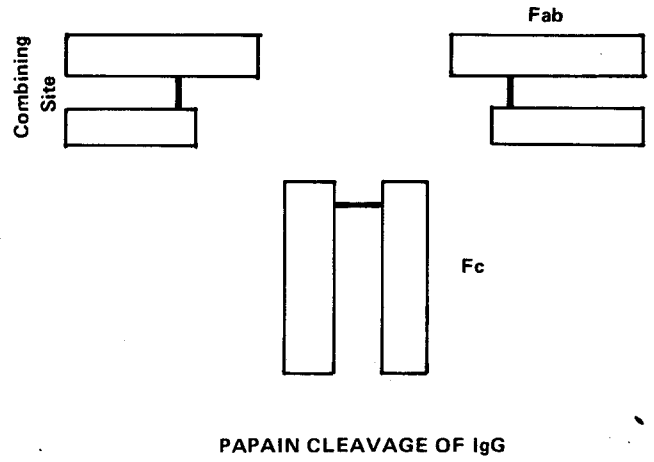
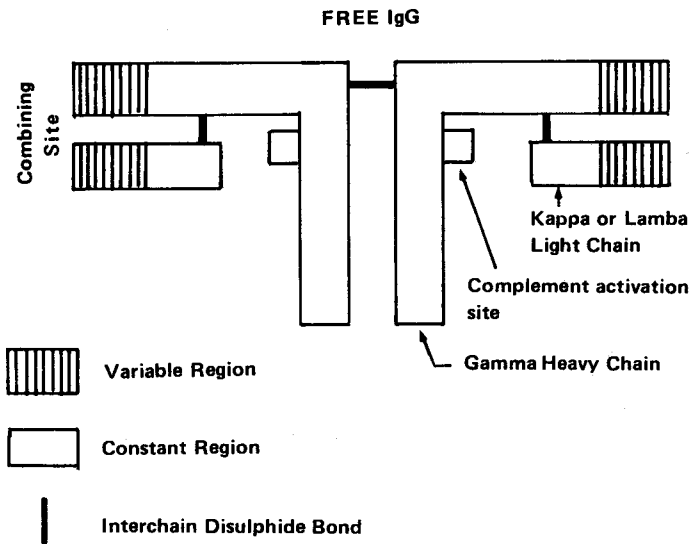
Auto-antibody juga seperti allo-antibody, sama-sama termasuk golongan Gamma-globulin. Coombs serum tsb dibuat dari kelinci yang telah disuntik human gamma-globulin. Sifat dari anti-human-gamma globulin ini dapat dikelompokkan poly-specific yang Broad spectrum dan mono-specific, misalnya anti-IgG, anti-IgM, anti-IgA dan anti-C₃.

IgM antibody dapat langsung agglutinasinya sel dalam saline, malah ada juga yang lysis. IgG antibody tidak bisa langsung agglutinasinya sel dalam saline tetapi sempat melekat sel atau bisa juga langsung agglutinasinya sel yang telah dikupas dengan enzyme (enzyme treated cell).

Sel yang telah dilekat, bila ditambah anti-globulin serum, baru terjadi agglutinasinya.

Anti-IgG (anti-gamma-globulin serum) reaksi dengan heavy chain (bagian FC fragment)-nya IgG molekul gamma globulin yang melekat pada sel, dengan demikian terjadilah agglutinasinya. Polypeptide chains adalah unit struktur IgG dari immunoglobulin. Struktur yang terdiri dari 2 heavy chains dan 2 light chains bentuknya seperti letter T waktu bebas (Gambar 1) dan bisa berubah jadi letter Y waktu mengikat dengan antigen dan pada waktu itu terbukalah tempat untuk mengaktifkan komplemen (Gambar 2).

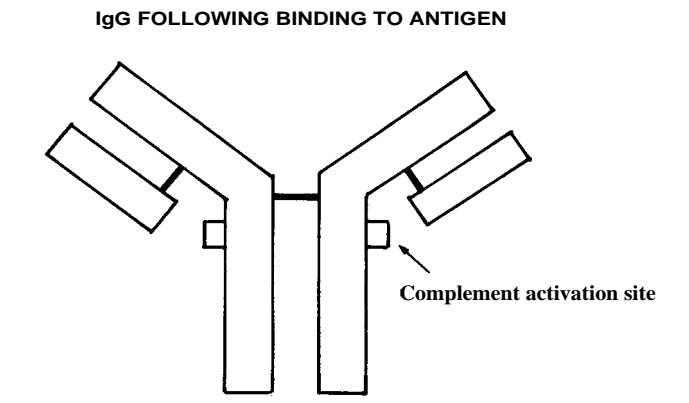
Bila IgG molekul ini dikupas dengan enzyme papain, dapat dipecah jadi 2 potong Fab fragment yang terdiri dari 1 light chain dan 1/2 H chain dan 1 potong Fc fragment yang terdiri dari 2 buah "1/2H chain" (Gambar 3). Ujungnya Fab yang terdiri dari 1/4H chain dan 1/2 light chain, mempunyai sifat specificity antibody untuk mengikat antigen, dinamakan Variable region, sisanya disebut constant region yang menentukan macam-macam immunoglobulin IgG, IgA, IgE dan



subclassnya IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, dan IgA₁ serta IgA₂. Fc fragment dari sebagian constant region itu mempunyai tempat respon untuk komplemen dan tempat hubungan dengan macrophage dalam limpa (Gambar I). Di situlah komplemen mengikat antibody dan sel yang telah dilekat oleh zat anti akan dirusak oleh macrophage dalam limpa di tempat hubungannya tersebut.

Zat anti type hangat biasanya dari IgG₁ dan IgG₃. Semua IgG₃ me-lysis sel. Bila hasil DAT tsb positif, berarti mungkin menderita AIHA. Tetapi bukan setiap DAT yang positif dikarenakan AIHA, bisa juga morbus haemolyticus neonatorum (HDN), reaksi transfusi yang lambat atau hemolytic anemia yang disebabkan obat-obatan (drugs induced immune hemolytic anemia). Sebaliknya biarpun DAT negatif bila syndrome dari klinik jelas mendukung AIHA, tetap tidak lepas dari AIHA.

II. Protein jenis apa yang melekat pada sel darah merah ?
Setelah DAT positif dengan poly-specific antiglobulin serum, anti-IgG dan anti-C₃ dapat membedakan protein tsb, termasuk gamma globulin atau non gamma globulin (komplemen). Dalam kasus-kasus tertentu bila perlu juga dipakai anti-IgA dan anti-IgM.



III. Apakah ada zat anti yang bebas (free antibody) dalam serum penderita ?

Bila ada, tergolong agglutinine "complete" atau "incomplete" dan apakah sifatnya hemolytic ? Pada suhu berapa zat anti tsb beraksi paling baik ? Dan apa pula specificitynya ?
Pertanyaan ini akan dapat jawabannya dengan teknis yang biasa dipakai oleh Bank Darah. Serum penderita yang asli dan yang telah diasamkan dengan 0,2 N HCl, sehingga pH nya diantara 6,5 — 6,8 dan serum yang diasamkan itu lalu ditambah komplemen yang diasamkan pula. Ketiga macam serum penderita tsb ditest dengan sel panel yang normal dan sel panel yang telah dikupas dengan enzyme masing-masing dalam suhu 20° C dan 37° C. Dari hasil lysis, agglutinasia atau tiada reaksi, akan dapat disimpulkan zat anti type hangat atau type dingin (Lihat Tabel 1 & 2).

Bila antibody type hangat yang ditemukan, specificity test harus dilakukan dari eluate dan serum. Biasanya karena sel darah merah telah dilekat oleh auto-antibody dalam serum:

TABEL 1. HASIL SCREENING SERUM PENDERITA ZAT ANTI DARI TYPE HANGAT YANG TYPICAL

	S	AS	AS+AC
20° C sel normal			
lysis	0	0	0
agglutinasia	0	0	0
20° C sel yang dikupas dengan enzyme			
lysis	0	0	0
agglutinasia	1+	1+	1+
37° C sel normal			
lysis	0	0	0
agglutinasia	0	0	0
indirect A.T.	2+	2+	2+
37° C sel yang dikupas dengan enzyme			
lysis	1/2+	1+	2+
agglutinasia	3+	3+	3+

S = Serum Pasien
AS = Serum pasien yang diasamkan dengan 1/10 vol 0—2 N HCl menjadi pH 6,5—6,8
AS + AC = Serum pasien tambah serum segar yang diasamkan.

TABEL 2. HASIL SCREENING SERUM PENDERITA—ZAT ANTI DARI AIHA TYPE DINGIN (COLD AGGLUTININE SYNDROME) YANG TYPICAL

	S	AS	AS+AC
20°C sel normal			
lysis	1+	1+	3+
agglutinas	4+	4+	4+
20°C sel yang telah dikupas dengan enzyme			
lysis	2+	3+	4+
agglutinas	4+	4+	X
37°C sel normal			
lysis	0	0	0
agglutinas	0	0	0
Indirect AT	0	0	0
37°C sel yang telah dikupas dengan enzyme			
lysis	0	0	0
agglutinas	0	0	0

X = tidak dapat dicatat karena semua sel telah lysis.

Sebaliknya bila masih terdapat banyak free antibody dalam serum, ini menunjukkan antibodynya banyak dan titernya tinggi sekali, prognosinya tentu turut gawat. Eluate dan serum sama-sama ditest dengan sel panel maka dapat diketahui apakah ada juga alloantibody disamping auto antibody. Bila serum dan eluate dititer dengan sel cde/cde, cDE/cDE dan cDe/cDe, dapat diketahui pula specificitynya.

Bila cold antibody yang ditemukan, serum penderita diti- ter dengan sel orang dewasa, sel talipusat dari bayi pada suhu 4° C, 25° C, 30° C dan 37° C, maka dapat diketahui specifi- city IgM antibody dalam Ii system. Titer dari cold agglutinin syndrome pada 4° C umumnya lebih dari 1000, ada yang men- capai 500.000 dan bisa reaksi pada suhu 32° C. Bila ditambah 30% albumin malah bisa bereaksi pada suhu 37°C.

Kalau sel darah merah penderita dikupas dengan enzyme, hampir semua kasus hemolyse pada 20° C. Anti pr juga salah satu specificity dalam cold antibody yang jarang ditemukan; pr antigen mudah dirusak oleh enzyme dan tidak akan terjadi reaksi dengan anti pr. Sedangkan anti I malah bereaksi lebih keras dengan sel yang telah dikupas dengan enzyme. Paroxys- mal cold hemoglobulin uria yang juga dikelompokkan dalam AIHA type dingin amat jarang. Specificitynya IgG anti P dapat dibuktikan dengan biphasic Donath Landsteiner test.

IV. Apa keistimewaan daripada eluate antibody ini ?

Bila DAT hanya positif dengan anti-C3 berarti komplemen-lah yang ada pada sel dan tak ditemukan antibody. Bila DAT positif dengan anti-IgG berarti ada IgG molecule yang lekat pada sel. Maka eluate dari sel tsb akan bereaksi dengan normal cells.

Specificity dari antibody tsb bisa juga ditetapkan bila ditest dengan sel panel. Bila DAT positif dengan anti-IgG tetapi tidak terlihat reaksi dengan sel normal dalam eluate, dapat diduga keras karena Drugs Induce Immunohemolytic Anemia.

CARA PENGAMBILAN SAMPLE DARAH UNTUK PENE- LITIAN AIHA

Biasanya serum diambil dari darah beku dalam suhu 37° C dan sel darah merah diambil dalam EDTA untuk keperluan golongan darah. DAT dan eluate, dari pengambilan dalant spuit sampai pemutaran disentrifugasi dan pemisahan sel darah merah, harus dilakukan dalam suhu 37° C pula.

PENETAPAN GOLONGAN DARAH ABO DAN RH FACTOR

Tidak jarang dialami kesukaran untuk menetapkan golo- ngan darah dari penderita AIHA. Pemanasan dan pencucian sel dalam 37°C tidak selalu dapat melepaskan zat anti yang melekat pada sel, ada yang perlu dipanaskan 45°C selama 5 — 30 menit ada juga yang sampai 50°C selama 3 — 10 menit, baru berhasil menetapkan golongan darahnya setelah zat anti dilepas dari sel. Tetapi pemanasan 56°C dapat melemah- kan antigen dalam Rh system. Bila tidak dengan prosedur tsb banyak golongan darah dari penderita AIHA diperkirakan AB.

Baik pada AIHA type hangat maupun AIHA type dingin, tidak ada darah donor yang kompatible, dengan kata lain tidak ada darah yang cocok untuk penderita AIHA ini.

TERAPI

Terapi dengan steroid dapat menekan zat anti sehingga sel darah merah penderita tidak lagi banyak dilekat oleh zat anti. Dalam satu minggu Hb sudah mulai perlahan-lahan bertambah. Dosis permulaan sebaiknya 60 — 80 mg tiap hari pada orang dewasa dan dengan demikian 80% penderita akan mengalami perbaikan. Rusaknya sel darah merah mengurang dengan cepat. Kemajuan dalam data-data hematologi cukup jelas, hanya dalam satu minggu. Bila respons terapi ini tetap kecil sesudah 3 minggu dapat dikatakan gagal. Pengalaman klinisi menunjukkan dosis yang lebih besar ($\pm 1,5$ mg /kg/hari) tidak membawa efek yang lebih baik.

Biasanya perbaikan dan kemajuan simptom lebih cepat daripada respons hematologi, tetapi bila kortikosteroid dengan dosis yang lebih tinggi akan terjadi efek samping. Untuk itu perlu menurunkan dosis sedikit demi sedikit secara bertahap. Menurut pengalaman para klinisi, dosis pertama sebaiknya diteruskan sampai 3 minggu. Kemudian dosis tsb diturunkan 10 atau 15 mg dalam satu hari setiap minggu, sampai dosisnya mencapai 30 mg per hari. Lalu dikurangi lagi 5 mg dalam satu hari setiap satu atau dua minggu sampai dosis itu tinggal 15 mg per hari. Dan diteruskan lagi pengurangan 2,5 mg tiap dua minggu. Maka satu periode terapi paling sedikit 3 sampai 4 bulan. Bila dosis maintenance korticosteroid lebih dari 15 mg per hari untuk mempertahankan hematokrit di atas 30, perlu dipertimbangkan splenectomy atau obat-obat immunosuppressive.

KEPUSTAKAAN

1. Lawrence Petg, George Garratty. Acquired Immune Hemolytic Anemia.
2. Peter D Issit, Charla H Issitt. Applied Blood Group Serology.