

PRA PROMOSI

ANALISIS PERBEDAAN FREKUENSI GENOTIPE *HUMAN PLATELET ANTIGEN* (HPA), KONSENTRASI IMUNOGLOBULIN-G ANTI-HPA, EKSPRESI mRNA IL-1 β PADA PASIEN *IMMUNE THROMBOCYTOPENIA* PRIMER DAN SEKUNDER

ANALYSIS OF THE DIFFERENCES IN FREQUENCIES OF HUMAN PLATELET ANTIGEN (HPA) GENOTYPES, ANTI-HPA IMMUNOGLOBULIN-G CONCENTRATION, IL-1 β mRNA EXPRESSION IN PRIMARY AND SECONDARY THROMBOCYTOPENIC IMMUNE PATIENTS

RACHMAWATI ADIPUTRI MUHIDDIN

C013172011



**PROGRAM PENDIDIKAN PASCA SARJANA
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2020

DISERTASI

ANALISIS PERBEDAAN FREKUENSI GENOTIPE *HUMAN PLATELET ANTIGEN (HPA)*, IMUNOGLOBULIN-G ANTI-HPA, EKSPRESI mRNA IL-1B PADA PASIEN *IMMUNE THROMBOCYTOPENIA (ITP)* PRIMER DAN SEKUNDER.

Disusun dan diajukan oleh

Rachmawati Adiputri Muhiddin
C013171011

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Disertasi
pada tanggal 11 Desember 2020
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui
Komisi Penasehat,

Prof. dr. Mansyur Arif, Ph.D, SP.PK(K), M. Kes
Promotor

Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)
Ko-Promotor

Ketua Program Studi S3
Ilmu Kedokteran,

dr. Agussalim Bukhari, M. Med, Ph.D, Sp.GK (K)

Dr. dr. Tutik Harjianti, Sp.PD-KHOM
Ko-Promotor

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin

Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN

Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Makassar 90245 Telp.(0411)586010,(0411)586297
EMAIL : s3kedokteranunhas@gmail.com

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Rachmawati Adiputri Muhiddin
NIM : C013172011
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul :

ANALISIS PERBEDAAN FREKUENSI GENOTIPE HUMAN PLATELET ANTIGEN (HPA), IMUNOGLOBULIN-G ANTI-HPA, EKSPRESI mRNA IL-1 β PADA PASIEN IMMUNE THROMBOCYTOPENIA PRIMER DAN SEKUNDER

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain, bahwa Disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan Disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 7 Januari 2021

Yang menyatakan,



Rachmawati Adiputri Muhiddin

ABSTRAK

RAHMAWATI MUHIDDIN. *Analisis Human Platelet Antigen (HPA) pada Pasien Thrombocytopenia* (dibimbing oleh Mansyur Arif, Mochammad Hatta, dan Tutik Hardijanti).

Penelitian ini bertujuan mengetahui seroprevalensi (genotipe dan frekuensi) *human platelet antigen (HPA)* pada pasien trombotopenik nonimun dan imun.

Penelitian ini menggunakan metode potong lintang yang dilakukan terhadap 66 pasien trombotopenia. Pengambilan sampel dilakukan selama periode Mei-Juli 2019 dan dilakukan pengidentifikasian genotipe HPA pada sampel darah *buffy coat*. Sampel diperiksa dengan pemeriksaan PCR untuk mendeteksi genotipe HPA di Laboratorium Pusat Penelitian Medik/Fakultas Kedokteran RS Universitas Hasanuddin Makassar. Data dianalisis dengan uji statistik antara lain uji-T independen, Mann-Whitney, chi-Square, dan Fisher Exact. Hasil uji dinyatakan signifikan secara statistik jika nilai $p < 0,005$.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 66 pasien trombotopenia didapati usia 19-82 tahun, 41 orang perempuan (62,1%) dan 25 orang laki-laki (37,9%); 31 orang pasien (47%) tergolong trombotopenia nonimun dan 35 orang pasien (53%) tergolong trombotopenia imun. Frekuensi HPA tertinggi (100%) adalah HPA-1b, 2a, dan 4a didapatkan baik di trombotopenia nonimun maupun di trombotopenia imun. Penelitian ini juga menemukan frekuensi HPA-1b dan 15a, baik di trombotopenia nonimun maupun trombotopenia imun yang tidak ditemukan pada populasi normal di Makassar dalam penelitian sebelumnya. Frekuensi HPA-4b (2,8%) didapatkan pada populasi trombotopenia imun yang tidak ditemukan pada populasi trombotopenia nonimun. Distribusi positif HPA-3b ditemukan secara signifikan lebih tinggi di kelompok imun (22,9%) (dibandingkan di kelompok nonimun (3,2%) ($p < 0,005$)). Frekuensi HPA-3b ditemukan secara signifikan lebih tinggi di trombotopenia imun daripada di trombotopenia nonimun.

Kata kunci: *human platelet antigen*, nonimun, kekebalan tubuh, trombotopenia



ABSTRACT

RACHMAWATI MUHIDDIN. *The Analysis of Human Platelet Antigen (HPA) in Thrombocytopenia Patients* (supervised by **Mansyur Arif, Mochammad Hatta, and Tutik Hardijanti**)

The aim of this research is to study seroprevalence (genotype and frequency) of Human Platelet Antigen (HPA) in patients with non-immune and immune thrombocytopenia.

The research used a cross sectional study conducted to 66 patients with thrombocytopenia. The data were collected from May to July 2019, and HPA genotypes were using buffy coat blood samples. The samples were examined using PCR examination to detect HPA genotype at Medical-Research Center Laboratory, Medical Faculty of Hasanuddin University Hospital, Makassar. The data were analyzed using statistical test by means of Independent-t, Mann-Whitney, Chi-Square, and Fisher Exact tests.

The results of the research are statistically significant if the p-value is <0.05 . Out of 66 thrombocytopenia patients aged 19-82 years, 41 (62.1%) of them are women and 25 (37.9%) are men. There are 31 (47.0%) patients who are non-immune thrombocytopenia and 35 (53.0%) are immune thrombocytopenia. The highest HPA frequency (100%) is HPA-1b, 2a, and 4a obtained from both non-immune and immune thrombocytopenia. In this study, there are HPA 1b, and 5b frequency in both non-immune and immune thrombocytopenia which are not found in normal population in Makassar (in our research before). HPA-4b (2.8%) is found in the population of immune thrombocytopenia but it is not found in non-immune thrombocytopenia. The positive distribution of HPA-3b is significantly higher in immune group (22.9%) than in non-immune group (3.2%) ($p < 0.05$). HPA-3b frequency is significantly higher in immune than in non-immune thrombocytopenia.

Key words: Human Platelet Antigen, Non-immune, Immune, Thrombocytopenia



KATA PENGANTAR

Puji dan syukur ke hadirat Allah SWT yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang atas segala rahmat dan karunia-Nya, saya dapat melaksanakan Pendidikan S-3 Ilmu Kedokteran dan menyelesaikan disertasi penelitian ini dengan judul **“ANALISIS PERBEDAAN FREKUENSI GENOTIPE HUMAN PLATELET ANTIGEN (HPA), KONSENTRASI IMUNOGLOBULIN-G ANTI-HPA, EKSPRESI mRNA IL-1 β PADA PASIEN IMMUNE THROMBOCYTOPENIA PRIMER DAN SEKUNDER”**.

Peneliti dan penulis disertasi ini menyadari bahwa disertasi ini mendapat dukungan dan masukan dari berbagai pihak, dengan hati yang tulus, penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan kepada yang terhormat.

Rektor Universitas Hasanuddin, **Prof. Dr. Dwia Aires Tina Palubuhu, MA** atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan Pendidikan Program Studi Doktor (S-3) Ilmu Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, **Prof. Dr. Budu, Ph.D, Sp.M.(K), M.Med.Ed.** dan Ketua Departemen Ilmu Patologi Klinik **Dr. dr. Yuyun Widaningsih, M.Kes, Sp.PK. (K)**, atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan Program Studi Doktor (S-3).

Ketua Program Studi Doktor (S-3) Ilmu Kedokteran **Dr. Agus Salim Bukhari, M. Clin. Med, Ph.D, Sp.GK.(K)**, dan Sekretaris Program Studi S-3), **Dr. dr. Khairuddin Djawad, SpKK. (K)**, yang telah memberi kesempatan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan Program Studi Doktor (S-3).

Direktur RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo, **Dr. dr. Khalid Shaleh, Sp.PD, KKV. MARS**, dan Kepala Instalasi Laboratorium Patologi Klinik,

dr. Asvin Nurulita M.Kes, SpPK. (K), yang memberi izin dan membantu saya dalam mengikuti Program Studi Doktor (S-3).

Prof. dr. Mansyur Arif, Sp.PK. (K), Ph.D, Guru Besar Tetap Departemen Ilmu Patologi Klinik Universitas Hasanuddin/RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar atas kesediaannya dengan tulusannya menjadi Promotor serta meluangkan waktu membimbing, mengarahkan dan memberi masukan dengan ketelitian yang sangat bermanfaat dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan disertasi ini.

Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK. (K), yang telah membantu dan atas kesediaannya menjadi Ko-Promotor, serta memberi dukungan, meluangkan waktu, mengarahkan, dan memperluas wawasan keilmuan saya, memberi masukan yang sangat bermanfaat dalam penulisan disertasi ini.

Dr. dr. Tutik Hardjianti, Sp.PD. K-HOM, sebagai Ko-Promotor yang telah memberi semangat, pengetahuan dan masukan yang sangat bermanfaat dalam mengikuti program studi dan penulisan disertasi ini.

Para penguji disertasi **Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D, Sp.Biok, Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D, Sp.MK, Dr. dr. Teguh Triyono, Sp.PK. (K), dr. Ulung Bahrin, Ph.D, Sp.PK (K), dr. Rahmawati Minhajat, Ph.D, Sp.PD. K-HOM, Dr. dr. Ilhamjaya Patellongi, M.Kes**, saya ucapkan terima kasih yang sebesar-besanya atas bimbingan dan diskusi selama saya mengikuti Program Studi S-3.

Terima kasih juga kepada staf laboratorium Immunologi dan Biomolekuler Universitas Hasanuddin Makassar, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan Laboratorium Patologi Klinik RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar, yang telah banyak membantu dalam proses penelitian ini.

Akmal, S.Sos, MAP., Abul Muin, Amd.FT dan **Rahmat** di sekretariat Program Studi Doktor (S-3), para sejawat Peserta Program Studi Doktor (S-3) seangkatan, **Dr. dr. Faisal Muchtar, Sp.An, KIC, Dr. dr.**

Rizha Anshori Nasution, Sp.BS., dr. Dany. H. Ludong, Sp.KJ., dr. Yanti Leman, Sp.KK, dan sejawat lainnya.

Terima kasih yang tak terhingga serta do'a saya untuk orang tua tercinta ayahanda **Alm. Drs. Hammad Muhiddin**, dan **ibunda Almh. Hadawiyah** yang telah melahirkan, membesarkan, mendidik, serta membimbing dan memberi tauladan dalam bekerja keras, menekankan pendidikan ilmu pengetahuan Agama Islam, dan mengutamakan kejujuran, bertanggung jawab atas tugas yang diembankan, serta tabah dalam menjalani kehidupan. Terima kasih yang setinggi-tingginya saya sampaikan kepada bapak mertua **Alm Maddu** dan ibu mertua **Alm Haliman**, atas do'a dan kasih sayang mereka selama masih hidup, suami tercinta **Ir. Aminuddin Maddu, mmt**, yang telah memberikan izin dan motivasi untuk menyelesaikan Pendidikan Program Doktor (S-3), dan kepada anak-anak saya **Nur Ihsanullah, Indah Nur Lathifah, dan Nur Imanullah** yang menjadi motivasi dalam melaksanakan dan menyelesaikan Program Pendidikan Doktor (S-3). Terima kasih kepada saudara-saudara saya **Ir. Achmad Bakri, Ph.D, Dr. dr. Habibah Setyawati, Sp.M (K), Dr. Ir. Amir Hamzah, Ir. Aisyah Pujiati, dan Dr. Hamidah Suryani, M.PD**, atas bantuannya selama saya menyelesaikan Program Pendidikan Doktor (S-3).

Semua pihak yang telah membantu, secara langsung atau tidak langsung yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu namanya semoga Allah SWT, Tuhan Yang Maha Kuasa memberikan balasan yang terbaik.

Semoga disertasi ini dapat memberi sumbangan berharga bagi perkembangan Ilmu Kedokteran serta peningkatan pelayanan kedokteran kepada masyarakat, dan Allah SWT senantiasa memberi rahmat dan hidayah-Nya kita semua, Amiin yaa Rabbal Alamiin

Makassar, Oktober 2020

Rachmawati Adiputri Muhiddin

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR GRAFIK	ix
DAFTAR SINGKATAN.....	x
A B S T R A K.....	xii
A B S T R A C T.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. LATAR BELAKANG.....	1
B. RUMUSAN MASALAH	6
C. TUJUAN PENELITIAN	7
1. Tujuan Umum.....	7
2. Tujuan Khusus.....	7
D. MANFAAT PENELITIAN	8
E. HIPOTESIS	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
A. TROMBOSIT.....	9
1. STRUKTUR DAN FUNGSI	9
2. MEGAKARYOPOIESIS	16
3. ANTIGEN TROMBOSIT	20
4. <i>HUMAN PLATELET ANTIGEN (HPA)</i>	24
B. TROMBOSITOPENIA	26
1. <i>PRIMARY IMMUNE THROMBOSITOPENIC / ITP PRIMER</i> .	29
2. <i>SECONDARY IMMUNE THROMBOSITOPENIC / ITP</i> SEKUNDER	38
3. Pemeriksaan laboratorium pada ITP	48
KERANGKA PENELITIAN	60
B. KERANGKA KONSEP.....	61

BAB III METODE PENELITIAN.....	62
A. DESAIN PENELITIAN.....	62
B. TEMPAT DAN WAKTU PENELITIAN	62
1. Tempat Penelitian.....	62
2. Waktu Penelitian.....	62
C. POPULASI PENELITIAN	63
D. SAMPEL DAN CARA PEMILIHAN SAMPEL.....	63
E. PERKIRAAN BESAR SAMPEL.....	63
F. KRITERIA INKLUSI DAN EKSKLUSI.....	64
1. Kriteria Inklusi.....	64
2. Kriteria Eksklusi	65
G. IZIN SUBYEK PENELITIAN	65
H. CARA KERJA	65
1. Alokasi Subyek.....	65
2. Cara Penelitian.....	65
I. PROSEDUR PEMERIKSAAN	66
1. Frekuensi Genotipe HPA dengan metode one step PCR, Biorad	66
2. Konsentrasi IgG-anti HPA antibodi dengan metode ELISA	74
3. Ekspresi mRNA IL 1 β	77
J.DEFINISI OPERASIONAL DAN KRITERIA OBYEKTIF	83
K. METODE ANALISIS DATA.....	85
L. SKEMA ALUR PENELITIAN	86
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	87
A. HASIL PENELITIAN.....	87
1. Karakteristik subyek penelitian	87
2. Perbedaan Biomarker antara ITP primer dan sekunder.....	88
3. Perbandingan Frekunesi Genotipe HPA antara pasien ITP Primer	91
dan Sekunder	91
4. Hubungan antara genotipe HPA dengan konsentrasi IgG anti-HPA dan Jumlah Trombosit pada pasien ITP Primer	93
5. Hubungan antara genotipe HPA dengan konsentrasi IgG anti-HPA dan Jumlah Trombosit pada pasien ITP Sekunder	95

6. Hubungan mRNA IL-1 β dengan Jumlah Trombosit dan Konsentrasi IgG anti-HPA	97
B. PEMBAHASAN	99
1. Karakteristik subyek penelitian	99
2. Perbedaan Biomarker antara ITP primer dan sekunder	101
3. Perbandingan Frekuensi Genotipe HPA antara pasien ITP Primer dan Sekunder	112
4. Hubungan antara frekuensi genotipe HPA dengan konsentrasi IgG anti-HPA dan jumlah trombosit pada ITP primer	116
5. Hubungan antara genotipe HPA dengan konsentrasi IgG anti-HPA dan Jumlah Trombosit pada penderita Trombositopenia Sekunder	119
6. Hubungan mRNA IL-1 β dengan Jumlah Trombosit dan Konsentrasi IgG anti HPA	123
C. RESUME HASIL PENELITIAN	126
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	128
1. SIMPULAN	128
2. SARAN	128
Daftar Pustaka	129

DAFTAR TABEL

Tabel 1	Sistem Tata nama <i>Human Platelet Alloantigen</i>	25
Tabel 2	<i>Immune Thrombocytopenia</i>	38
Tabel 3	Sistem Nomenklatur Interleukin-1 (IL-1).....	55
Tabel 4	Urutan Nukleotida pada Oligonukleotida yang digunakan untuk amplifikasi PCR pemeriksaan HPA Antigen.....	68
Tabel 5	Komposisi Reaksi Real-Time PCR Spesifik.....	78
Tabel 6	Karakteristik Demografi Subyek Penelitian.....	87
Tabel 7	Perbedaan Beberapa Biomarker antara ITP Primer dan Sekunder.....	88
Tabel 8	Perbedaan distribusi genotipe HPA antara ITP Primer dan Sekunder.....	91
Tabel 9	Frekuensi genotipe HPA pada populasi normal, populasi ITP primer dan sekunder.....	92
Tabel 10	Perbedaan konsentrasi IgG anti-HPA dan Jumlah Trombosit pada ITP Primer berdasarkan distribusi genotipe HPA.....	94
Tabel 11	Perbedaan konsentrasi IgG anti-HPA dan Jumlah Trombosit pada ITP Sekunder berdasarkan berbagai genotipe HPA.....	96
Tabel 12	Korelasi mRNA IL- β dengan Jumlah Trombosit dan Konsentrasi IgG anti HPA pada ITP primer dan sekunder	97

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Trombosit	10
Gambar 2	Sistem Canaliculi dan Granul Trombosit	11
Gambar 3	Adhesi dan Agregasi.....	13
Gambar 4	A. Adhesi Trombosit; B. Mekanisme Hemostasis.....	15
Gambar 5	Urutan maturasi Megakaryopoiesis.....	18
Gambar 6	Ilustrasi Diferensiasi Megakaryosit.....	19
Gambar 7	Skema representasi substitusi asam amino yang menentukan <i>Human Platelet Antigen</i> (HPA).....	24
Gambar 8	Patofisiologi trombositopenia.....	28
Gambar 9	Mekanisme Disregulasi Imun pada ITP	32
Gambar 10	Patofisiologi terjadinya ITP.....	34
Gambar 11	Perubahan pada ITP	36
Gambar 12	Mekanisme autoimun mimikri	45
Gambar 13	Daftar klasifikasi obat yang dapat menyebabkan trombositopenia.....	48
Gambar 14	Apusan darah tepi pada ITP	49
Gambar 15	Aspirasi Sumsum Tulang, peningkatan jumlah megakaryosit	50
Gambar 16	Deteksi Ig-G anti-HPA metode ELISA.....	52
Gambar 17	Deteksi <i>antiplatelet antibody</i> dengan <i>the monoclonal antigen capture assay</i>	53
Gambar 18	Mekanisme kerja inhibitor IL-1.....	59
Gambar 19	Profil set up CFX Manager.....	83

DAFTAR GRAFIK

Grafik 1	<i>Box Plot</i> jumlah trombosit pada ITP primer dan sekunder.....	89
Grafik 2	<i>Box Plot</i> konsentrasi IgG anti-HPA pada ITP primer dan sekunder.....	89
Grafik 3	<i>Box Plot</i> ekspresi mRNA IL-1 β pada ITP primer dan sekunder.....	90
Grafik 4	Grafik sebaran korelasi antara konsentrasi ekspresi mRNA IL-1 β dengan jumlah trombosit	98

DAFTAR SINGKATAN

5HT	<i>5Hydroxytryptamine receptors</i>
ADP	adenosin difosfat
AIDS	<i>acquired immunodeficiency syndrome</i>
AITP	<i>Autoimmune Thrombocytopenic Purpura</i>
ALPS	<i>Autoimmune lymphoproliferative syndrome</i>
ANA	<i>Anti-nuclear Antibody</i>
anti-GPAb	<i>antiglycoprotein antibodies</i>
APC	<i>Antigen Presenting Cell</i>
APS	<i>Antiphospholipid Syndrome</i>
ATP	adenosin trifosfat
BMP4	<i>bone morphogenetic protein-4</i>
β2GP-I	Beta-2-glikoprotein-I
CBC	<i>Complete blood count</i>
CD	<i>Cluster Differentiation</i>
CFU-MK	<i>megakaryosit colony-forming units</i>
CLL	<i>chronic lymphocytic leukemia</i>
CVID	<i>Common variable immune deficiency</i>
CXCL7	<i>(C-X-C motif) chemokine Ligand 7</i>
DAT	<i>Direct Antiglobulin Test</i>
DITP	<i>Drug-Induced Thrombocytopenia</i>
ds-DNA	<i>Double-stranded Deoxyribonucleic Acid</i>
EBV	<i>Eipstein-Barr virus</i>
EDTA	<i>Ethylen Diamin Tetra Acetic acid</i>
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
EPO	<i>erythropoietin</i>
FGF4	<i>fibroblast growth factor-4</i>
FLT3-L	<i>Fms like tyrosine kinase 3 Ligand</i>
FNAIT	<i>Foetal Neonatal Allo Immunity Thrombocytopenia</i>
FT4	Free Thyroxin
GM-CSF	<i>Granulocyt-macrophage Colony Stimulating Factor</i>
GP	Glikoprotein
GPI	<i>glycosylphosphatidyl-inositol</i>
HbA1c	Hemoglobin A1c
HIDS	<i>hyperimmunoglobulinemia D and periodic fever syndrome</i>
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HLA	<i>Human Lecocyte Antigen</i>
HPA	<i>Human Platelet Antigen</i>
HVB	Hepatitis Virus B
HVC	Hepatitis Virus C
IFN _γ	<i>Interferon gamma</i>
IL	<i>Interleukin</i>
IL-1R1	IL-1-reseptor-1
ITP	<i>Immune Thrombositopenic Purpura</i>
IWG	<i>International Working Group</i>

ITGA2B	<i>Integrin Alpha-2b</i>
ITGB3	<i>Integrin Beta-3</i>
IVIG	<i>Intravenous Immune globulin</i>
LAF	<i>Lymphocyte-activating factor</i>
LGL	<i>Large granular lymphocytic</i>
LIF	<i>Leukemia inhibitory factor</i>
MCH	<i>Mean Corpuscular Hemoglobine</i>
MCV	<i>Mean Corpuscular Volume</i>
MDSCs	<i>myeloid-derived suppressor cells</i>
MEP	<i>megakaryosit-erythroid progenitor</i>
MHC	<i>Major Histocompatibility Complex</i>
MKD	<i>mevalonate kinase deficiency</i>
m-RNA	<i>messenger-Ribonucleic Acid</i>
PA-IgG	<i>platelet associated IgG</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PECAM	<i>platelet-endothelial cell moleculae</i>
PF4	<i>Platelet Factor 4</i>
PTP	<i>Post-transfusion purpura</i>
TAMs	<i>Tumor-associated macrophages</i>
TGFB1	<i>Transforming Growth Factor Beta 1</i>
Th	<i>Lymphocyt T Helper</i>
TNF α	<i>Tumor Necrosis Factor alfa</i>
TPO	<i>thrombopoetin</i>
TSH	<i>Thyroid Stimulating Hormon</i>
SCF	<i>the stem cell factor</i>
SLE	<i>Lupus Erythematosus Systemic</i>
SST	<i>sumsum tulang belakang</i>
vWF	<i>von Willebrand factor</i>
VZV	<i>varicella zoster virus</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

A B S T R A K

Rachmawati Adiputri Muhiddin : Analisis Perbedaan Frekuensi Genotipe *Human Platelet Antigen* (HPA), Konsentrasi Immunoglobulin-G Anti-HPA, Ekspresi mRNA IL-1 β Pada Pasien *Immune Thrombocytopenia* Primer Dan Sekunder

Latar belakang: Pada *Immune Thrombocytopenia* (ITP) primer, rasio sel T helper yang meningkat dimediasi oleh Interleukin-1 β , menyebabkan pembentukan autoantibodi spesifik yang berikatan dengan trombosit dan megakaryosit, sehingga mempercepat lisis trombosit dan bersihan di limpa dan hati. Pada ITP sekunder disebabkan adanya penyakit atau faktor penyebab lain.

Tujuan: Untuk mengetahui perbedaan frekuensi genotipe *Human Platelet Antigen* (HPA-1 α , 1 β , 2 α , 2 β , 3 α , 3 β , 4 α , 4 β , 5 α , 5 β , 15 α , dan 15 β), konsentrasi Ig-G anti-HPA, dan ekspresi mRNA IL-1 β pada ITP primer dan sekunder.

Metode: Penelitian *cross-sectional*, pada 33 (55%) ITP primer dan 27 (45%) sekunder. Berdasarkan *The National Cancer Institute*, derajat trombositopenia dibagi menjadi derajat 1 (75.000-150.000 μ L), 2 (50.000- <75.000/ μ L), 3 (25.000- <50.000 / μ L), dan 4 (<25.000 / μ L). Pemeriksaan genotipe HPA dilakukan dengan metode *One Step PCR*, IgG anti-HPA dengan metode ELISA (Cusabio), dan ekspresi mRNA IL-1 β dengan RT-PCR. Data dianalisis secara statistik dengan uji beda *Mann-Whitney test* untuk mengetahui perbedaan frekuensi genotipe HPA dan konsentrasi Ig-G anti-HPA; *Independent t test* untuk mengetahui perbedaan ekspresi mRNA IL-1 β pada ITP primer dan sekunder, ($p < 0.05$)

Hasil : Sebanyak 38 pasien didiagnosis sebagai ITP primer, terdiri dari 7 (21,2%) pria dan 26 wanita (78,8%). Jumlah trombosit 44,00 (2,0 – 98,0) Konsetrasi IgG anti-HPA 0,113 \pm 0,023, Ekspresi mRNA-IL1 β 12,73 \pm 0,8. Frekuensi HPA-1 α (87,5%), 1 β (93,8%), 2 α (93,8%), 2 β (90,6%), 3 α (87,5%), 3 β (53,1%), 4 α (99,1%), 4 β (0%)), 5 α (34,4%), 5 β (3,1%), 15 α (3,1%), dan 15 β (3,6%). Pada ITP sekunder terdiri dari 20 (74,0%) pria

dan 7 (26,0%) wanita. Jumlah trombosit $84,0(11,4 - 104,0) \cdot 10^3/\mu\text{L}$. Konsentrasi IgG anti-HPA $0,117 \pm 0,030$, Ekspresi mRNA-IL1 β $9,78 \pm 0,52$. Frekuensi HPA-1 α (64,3%), 1 β (82,1%), 2 α (78,6%), 2 β (82,1%), 3 α (77,3%), 3 β (60,7%), 4 α (85,7%), 4 β (0%) , 5 α (42,9%), 5 β (0%), 15 α (10,7%), dan 15 β (7,1%). Tidak ada perbedaan signifikan frekuensi HPA pada ITP primer dan sekunder, tetapi terdapat perbedaan signifikan pada dengan populasi normal. Pada ITP primer, terdapat hubungan signifikan antara derajat ITP dengan IgG anti HPA antibodi ($p < 0,05$); tidak ada pada trombositopenia autoimun sekunder ($p > 0,05$). Ekspresi mRNA IL-1 β lebih tinggi pada ITP primer ($12,73 \pm 0,81$ Fold Change) daripada sekunder ($10,64 \pm 0,51$ Fold Change) ($p < 0,05$)

Simpulan: Terdapat keunikan frekuensi genotipe HPA pada pada pasien ITP dibandingkan populasi normal terutama HPA-1 β , baik pada ITP primer maupun sekunder. Terdapat peran genotipe HPA (HPA-1 α) pada jumlah trombosit, dan ekspresi mRNA IL-1 β pada ITP Primer. Peningkatan Ekspresi mRNA IL-1 β sebanding dengan penurunan jumlah trombosit pada ITP (primer dan sekunder). Terdapat peran genotipe HPA (HPA-3 α dan HPA-4 α), pada peningkatan konsentrasi IgG anti-HPA pada ITP sekunder.

ABSTRACT

Background: In primary Immune Thrombocytopenia (ITP), the increased ratio of T helper cells is mediated by Interleukin-1 β , causing the formation of specific autoantibodies that bind to platelets and megakaryocytes, thereby accelerating platelet lysis and clearance of the spleen and liver. Secondary ITP is caused by disease or other causative factors.

Objective: To determine the differences in the frequency of Human Platelet Antigen genotypes (HPA-1 α , 1 β , 2 α , 2 β , 3 α , 3 β , 4 α , 4 β , 5 α , 5 β , 15 α , and 15 β), anti-HPA Ig-G concentration, and IL-1 β mRNA expression in primary and secondary ITP.

Methods: Cross-sectional study, with 33 (55%) primary and 27 (45%) secondary ITP. According to The National Cancer Institute, the degrees of thrombocytopenia are divided into first degree (75,000-150,000 μ L), second (50,000- <75,000 / μ L), third (25,000- <50,000 / μ L), and fourth (<25,000 / μ L). Examination of HPA genotypes was carried out by One Step PCR method, IgG anti-HPA by ELISA (Cusabio) method, and IL-1 β mRNA expression by RT-PCR. Data were analyzed statistically by using the Mann-Whitney test to determine differences in the frequency of HPA genotypes and anti-HPA Ig-G concentrations; Independent t test to determine differences in IL-1 β mRNA expression in primary and secondary ITP, (p <0.05)

Results: A total of 38 patients were diagnosed as primary ITP, consist of 7 (21.2%) men and 26 women (78.8%). Platelet count were 44.00 (2.0 - 98.0). Concentration of anti-HPA IgG was 0,113 \pm 0,023, Expression of mRNA-IL1 was 12,73 \pm 0,8. Frequency HPA-1 α was (87.5%), 1 β (93.8%), 2 α (93.8%), 2 β (90.6%), 3 α (87.5%), 3 β (53.1%), 4 α (99.1%), 4 β (0%), 5 α (34.4%), 5 β (3.1%), 15 α (3.1%), and 15 β (3.6%). The secondary ITP consisted of 20 (74.0%) men and 7 (26.0%) women. Platelet count were 84.0 (11.4 - 104.0) $\cdot 10^3/\mu$ L. Anti-HPA IgG concentration was 0,117 \pm 0,030,

mRNA-IL1 β expression was $9,78 \pm 0,52$. Frequency HPA-1 α (64.3%), 1 β (82.1%), 2 α (78.6%), 2 β (82.1%), 3 α (77.3%), 3 β (60.7%), 4 α (85.7%), 4 β (0%), 5 α (42.9%), 5 β (0%), 15 α (10.7%), and 15 β (7.1%). There was no significant difference in the frequency of HPA in primary and secondary ITP, but there were significant differences in the normal population. In primary ITP, there was a significant relationship between the degree of ITP and IgG anti-HPA antibodies ($p < 0.05$); but not in secondary autoimmune thrombocytopenia ($p > 0.05$). IL-1 β mRNA expression was higher in primary ITP (12.73 ± 0.81 Fold Change) than in secondary (10.64 ± 0.51 Fold Change) ($p < 0.05$)

Conclusion: There is a unique frequency of HPA genotypes in ITP patients compared to normal population, especially HPA-1 β , both in primary and secondary ITP. There is a role for the HPA genotype (HPA-1 α) on platelet counts, and IL-1 β mRNA expression in primary ITP. The increase in IL-1 β mRNA expression was proportional to the decrease in the platelet count in ITP (primary and secondary). There is a role for HPA genotypes (HPA-3 α and HPA-4 α), in increasing anti-HPA IgG concentrations in secondary ITP.

BAB I PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Trombositopenia di definisikan sebagai jumlah trombosit sirkulasi darah di bawah normal. Trombositopenia disebabkan antara lain oleh kegagalan produksi trombosit, peningkatan konsumsi trombosit, distribusi trombosit abnormal, dan peningkatan destruksi trombosit (Gupta, et al, 2008). Trombositopenia autoimun atau *Immune Thrombositopenic* (ITP), merupakan salah satu penyakit autoimun yang ditandai dengan jumlah trombosit kurang dari 100.000/ μ L (berdasarkan konsensus panel *International Working Group* (IWG), 2009) (Bergmann, et al, 2010).

The National Cancer Institute, membagi derajat trombositopenia berdasarkan jumlah trombosit, yaitu derajat 1 (75.000-150.000/ μ L), derajat 2 (50.000-<75.000/ μ L), derajat 3 (25.000-<50.000/ μ L), derajat 4 (<25.000/ μ L). Semakin rendah jumlah trombosit maka semakin tinggi resiko terjadinya perdarahan (Neunert, 2007) (Warrier and Chauhan, 2012).

Berdasarkan patomekanismenya, ITP terdiri dari ITP primer dan sekunder. *Immune Thrombositopenic* sekunder timbul sebagai akibat penyakit autoimun lainnya (Tan, et al, 2012)

Insiden ITP adalah 100 kasus per 1 juta orang pertahun dan setengah dari kasus ini terjadi pada anak-anak. (Faried, et al, 2012) Angka kejadian ITP meningkat dari tahun ke tahun. Berdasarkan data *World Health Organization* (WHO), angka kejadian ITP dilaporkan 1.8 kasus/1000 persalinan di Finlandia. Di Indonesia, Insiden ITP akut pada anak, 4 – 5,3 kasus per 100.000 per tahun, distribusi hampir sama antara pria (52%) dan wanita (48%). Sekitar 7 – 28% anak-anak dengan ITP akut berkembang menjadi ITP kronik, sehingga diperkirakan terjadi pada 3 – 4 dari 100.000 kasus ITP dewasa per tahun (Perhimpunan Dokter Spesialis Penyakit Dalam Indonesia, 2007). Insiden ITP meningkat pada dewasa seiring dengan bertambahnya umur, antara umur 18 sampai 65 tahun dan pada wanita lebih banyak dibandingkan dengan pria (2,6 : 1). (Hashemi, et al, 2011)

Etiologi ITP primer masih belum jelas, faktor lingkungan dan genetik berperan penting dalam pathogenesis. (Liu, et al, 2014) Diduga peningkatan rasio sel T Helper, menyebabkan terbentuknya autoantibodi spesifik yang mengikat trombosit dan megakaryosit sehingga trombosit mengalami percepatan lisis dan bersihan di limpa dan hati. Autoantibodi tersebut pada tahap awal, mengikat antigen yang melimpah yang ditemukan pada permukaan trombosit yaitu pada *Human Platelet Antigen* (HPA)- α IIb β 3 (glikoprotein GP-IIb/IIIa). Trombosit yang berikatan dengan antibodi, kemudian dikenali oleh *Antigen Presenting Cell* (APC) melalui faktor kristalin reseptor

mengaktifkan makrofag. Trombosit kemudian mengalami internalisasi dan degradasi. Proses yang terjadi selanjutnya, APC merangsang pembentukan autoantibodi tidak hanya terhadap HPA- α IIb β 3 tetapi juga pada HPA-GP-Ib/IX. Aktivasi APC dibantu oleh kostimulator (interaksi antara *Cluster Differentiation*/CD154 dan CD40) mengekspresikan protein pada permukaan makrofag. Protein yang dipresentasikan selanjutnya mengaktifkan sel T menghasilkan sitokin dan mengaktifkan sel B untuk melepaskan antibodi terhadap glikoprotein trombosit. (George and Rascob, 1998)(Johnsen, 2012)(Jufferey, et al, 2017)

Antibodi anti-HPA, terutama Immunoglobulin G (IgG), tidak hanya mengikat trombosit tetapi juga mengikat megakaryosit sehingga dapat menghambat maturasi atau dapat menyebabkan lisis megakaryosit. *Human Platelet Antigen* adalah bentuk polimorfisme imunogenik dari GP dan fosfolipid membrane trombosit, masing-masing terdiri dari subunit α dan β yang tidak terkait secara konvensional. (Kunichi TJ, 2007)

Di Asia, 12 HPA dikelompokkan menjadi enam biallel (HPA-1 α /1 β , 2 α /2 β , 3 α /3 β , 4 α /4 β , 5 α /5 β , dan 15 α /15 β). (Kunichi TJ, 2007) Hasil penelitian Rachmawati M., Mansyur A., 2019, pada populasi donor di Makassar, menunjukkan frekuensi HPA-1 α (100%), HPA-2 α (100%), HPA-2 β (80,83%), HPA-3 α (75,83%), HPA-3 β (57,5%), HPA-

4 α (99,17%), dan HPA-5 α (39,17%) sampel penelitian mewakili semua suku (Bugis, Makassar, Mandar, dan Toraja) di Makassar.

Salah satu tes untuk mendeteksi konsentrasi Imunoglobulin-G *anti-Human Platelet Antigen* (Ig-G anti-HPA) dapat dilakukan dengan metode *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Tes ini mendeteksi konsentrasi Ig-G anti-HPA, sensitif mendeteksi Ig-G yang terikat pada trombosit tetapi kurang spesifik, karena trombosit dari pasien dengan trombositopenia imun serta nonimun dapat meningkatkan konsentrasi Ig-G anti-HPA. Meskipun nilai spesivitas tidak tinggi tetapi metode ini dapat diaplikasikan dalam pelayanan pasien, karena lebih mudah dan lebih sederhana pelaksanaanya. (Alvina, 2011)

Sitokin yang dihasilkan pada proses pembentukan autoantibodi masih dalam penelitian, beberapa penelitian, antara lain menyatakan keterlibatan Interleukin (IL)-4, IL-10, IL-1Ra, IL-1 β ekson 5 dikaitkan dengan ITP. (Yadav, et al, 2017) Penelitian lain menyatakan adanya polimorfisme *Human Leucocyt Antigen* (HLA), reseptor Fcy, dan *Tumor Necrosis Factor* (TNF) berhubungan dengan ITP. (Foster, et al, 2001)(Yang and Li, 2002) Zufferey, et al, 2017 dalam penelitian menunjukkan adanya konsentrasi yang tinggi IL-2 dan interferon (IFN) pada serum pasien ITP.

Interleukin-1 adalah sitokin yang terlibat dalam stimulasi megakaryopoiesis, regulasi produksi trombosit, dan generasi

autoantibodi. Derivat IL-1 terdiri dari, IL-1 α , IL-1 β , dan IL-1Ra, dan masing-masing memainkan peran fungsional yang berbeda dalam penyakit autoimun. IL-1 β berperan pada mekanisme autoinflamasi. IL-1 β -31 dan IL-1Ra menunjukkan hubungan yang signifikan ITP berat. (Yadav, et al, 2017)

Immune Thrombositopenic sekunder terjadi oleh infeksi virus atau menyertai penyakit autoimun lain seperti *Lupus Erythematosus Systemic* (LES), *Antiphospholipid Syndrome* (APS), penyakit tiroid, diabetes melitus tipe2 atau Sindrom Evans ; umumnya ditemukan pada orang dewasa. Perdarahan merupakan komplikasi yang serius, terutama perdarahan intrakranial. (Samson, et al, 2019)

Remisi spontan dapat terjadi pada lebih dari 80% kasus pada anak, tetapi hal ini tidak umum terjadi pada dewasa. Angka kematian akibat perdarahan diperkirakan sebesar 10% pada anak dan 15% pada dewasa. Umur lanjut dan adanya riwayat perdarahan sebelumnya meningkatkan resiko untuk terjadinya perdarahan berat.(Warrier, and Chauhan, 2012)

Strategi penanganan ITP adalah menekan respon imun dengan terapi steroid, dan mencegah terjadinya perdarahan akibat trombositopenia dengan transfusi trombosit. Tujuan terapi adalah untuk mencapai jumlah trombosit yang memberikan hemostasis yang adekuat pada pasien. (Tan, Lian and Nadarajan, 2012)(Matzdorff, et al, 2018)

Penanganan steroid jangka lama memberikan efek samping multi organ, dan risiko perdarahan lambung (Guidry, et al, 2009), transfusi trombosit berulang dapat menimbulkan reaksi transfusi, selain itu peningkatan jumlah trombosit post transfusi yang tidak bertahan lama (trombosit refrakter). (Samson, et al, 2019)

Penggunaan anti IL-1 dalam penanganan penyakit autoimun telah dikembangkan. (Schiff, 2000) Pada ITP, penggunaan terapi IL-1 dapat dikembangkan berdasarkan potensi granulopoiesis dan trombopoiesis. (Nakai, et al, 1989)(Cohen, et al, 2010) Keterlibatan IL-1 β dan derivatnya pada ITP belum banyak disingkap, khususnya pada populasi di Indonesia. Peneliti tertarik menganalisis frekuensi genotipe HPA, konsentrasi Ig-G anti-HPA dan ekspresi m-RNA (*messenger-Ribonucleic Acid*) IL-1 β pada ITP primer dan sekunder.

B. RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan uraian pada latar belakang masalah, dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut : Apakah terdapat perbedaan frekuensi genotipe HPA, konsentrasi Ig-G anti-HPA dan ekspresi m-RNA IL-1 β pada Pasien ITP Primer dan Sekunder

C. TUJUAN PENELITIAN

1. Tujuan Umum

Diketuainya perananan genotipe HPA, Ig-G anti-HPA dan ekspresi m-RNA IL-1 β pada patomekanisme ITP Primer dan Sekunder

2. Tujuan Khusus

- 1) Diketuainya frekuensi genotipe HPA pada pasien ITP primer dan sekunder
- 2) Diketuainya konsentrasi IgG anti-HPA pada pasien ITP primer dan sekunder
- 3) Diketuainya ekspresi m-RNA IL-1 β pada pasien ITP primer dan sekunder.
- 4) Diketuainya perbedaan ekspresi jumlah trombosit, konsentrasi IgG anti-HPA dan mRNA IL-1 β dan dan pada ITP primer dan sekunder
- 5) Diketuainya hubungan antara frekuensi genotipe HPA dengan jumlah trombosit, dan konsentrasi IgG anti-HPA pada ITP primer dan ITP sekunder
- 6) Diketuainya hubungan ekspresi mRNA IL-1 β dengan Jumlah Trombosit dan konsentrasi IgG anti-HPA pada ITP primer dan sekunder

D. MANFAAT PENELITIAN

1. Menjadi dasar kebijakan skrining Ig-G anti-HPA pada pasien ITP
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi landasan penelitian selanjutnya dalam mendiagnosis dan manajemen terapi ITP
3. Bagi pasien menjadi dasar pengembangan penanganan ITP

E. HIPOTESIS

1. Terdapat perbedaan frekuensi genotipe HPA pasien ITP dengan populasi normal
2. Terdapat perbedaan frekuensi genotipe HPA pada pasien ITP primer dengan sekunder
3. Terdapat perbedaan konsentrasi Ig-G anti-HPA pada pasien ITP primer dan sekunder.
4. Terdapat perbedaan ekspresi m-RNA IL-1 β pada pasien ITP primer dan sekunder.
5. Terdapat hubungan antara frekuensi genotipe HPA dengan jumlah trombosit, dan konsentrasi IgG anti-HPA pada ITP primer dan ITP sekunder
6. Diketahuinya hubungan ekspresi mRNA IL-1 β dengan Jumlah Trombosit dan konsentrasi IgG anti-HPA pada ITP primer dan sekunder

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. TROMBOSIT

1. STRUKTUR DAN FUNGSI

Trombosit atau *platelet* adalah keping darah atau lempeng darah yang tidak berinti atau *anuclear*, ukuran diameter 2 – 3 μm (20% dari diameter eritrosit) dengan volume 7 – 8 fl. Trombosit memiliki permukaan yang tidak teratur, bercak biru muda dan mengandung sejumlah butiran *azurophilic* kecil yang biasanya terkonsentrasi di tengah. Trombosit diproduksi dari sel sumsum tulang yang disebut megakariosit. Megakariosit menjalani proses fragmentasi yang menghasilkan lebih dari 1.000 trombosit per megakariosit. (Neunert, 2017)(Wickramasinghe. SN, and Erber, 2011)

Trombosit yang tidak teraktivasi (istirahat) berbentuk seperti cakram bikonveks. Studi mikroskop elektron telah mengungkapkan bahwa permukaan trombosit tampak berbelit-belit, dan pada sitoplasma mengandung mitokondria, granula, dua sistem membran (sistem kanalikuli yang terhubung ke permukaan dan sistem tubular yang padat), mikrofilamen, mikrotubulus dan banyak molekul glikogen. (Gambar 1). (Michelson, 2007)

Bentuk cakram dipertahankan oleh sitoskeleton yang terdiri dari mikrokontraktilitas pendek mengandung *actomyosin* dan bundel mikrotubulus yang terdiri dari tubulin. Mikrofilamen terletak di antara

berbagai organel dan dapat melekat pada protein spesifik pada permukaan bagian dalam membran sel. Selain mempertahankan bentuk sel, mikrofilamen terlibat dalam retraksi bekuan. Bundel mikrotubulus terletak di zona sol-gel bebas organel, tepat di bawah membran sel dan tampaknya terhubung ke membran melalui filamen. Trombosit mempunyai bentuk retikulum endoplasma spesifik, yang dikenal sebagai sistem *tubular dense*. Sistem ini terutama mensintesis A2 tromboksan yang memainkan peran penting dalam reaksi pelepasan granula platelet. (Michelson, 2007)(Wickramasinghe. SN, and Erber, 2011)



Trombosit matur*

trombosit tidak aktif **

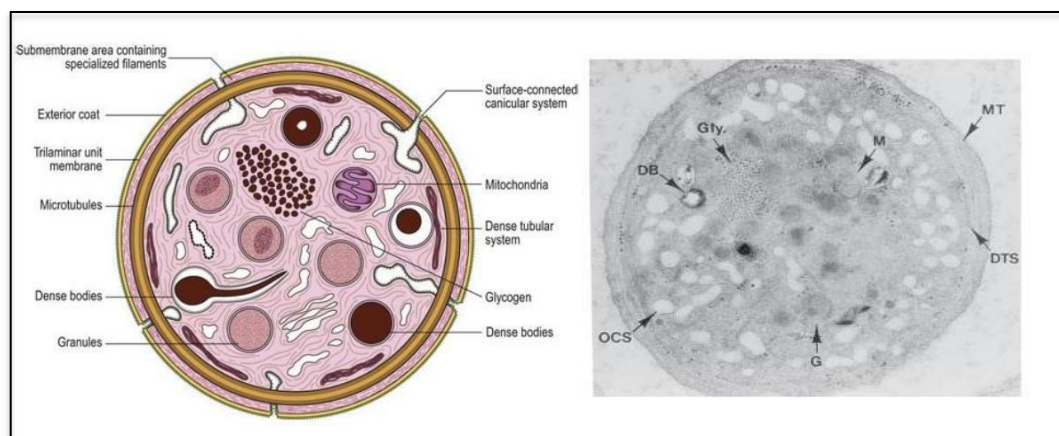
trombosit teraktivasi**

Gambar 1. Trombosit
(Theml, et al, 2004)*,(Michelson, 2007)**

Sistem *tubular dense* mengandung konsentrasi ion kalsium yang tinggi bila dibandingkan dengan tempat lain di sitoplasma, fungsinya mengatur aktivitas beberapa proses sitoplasma, mengatur ion kalsium mengaktivasi *actomyosin*, depolimerisasi mikrotubulus dan glikogenolisis. (Michelson, 2007)(Wickramasinghe. SN, and Erber, 2011)

Ada empat jenis granul trombosit (Michelson, 2007)(Wickramasinghe. SN, and Erber, 2011) :

- *Dense bodies* (granul δ) : sangat *electron-dense*, memperlihatkan bentuk **bull's eye** karena adanya zona *electron-lucent* antara sentral *electron-dense* dan membran pembatas, mengandung pool adenosin difosfat (ADP) dan adenosin trifosfat (ATP) yang berkaitan dengan agregasi trombosit sekunder. *Dense bodies* mengandung kalsium dan adrenalin serta *5Hydroxytryptamine receptors* (5HT) (menyebabkan vasokonstriksi dan agregasi trombosit).



Keterangan : Glycogen granules (Gly), dense bodies (D.B.), granules (G), The dense tubular system (DTS), mitochondria (M), microtubules (M.T.) the surface-connected or open canalicular system (C.S. and OCS).

Gambar 2. Sistem Canaliculi dan Granul Trombosit
(Danielle, 2019)

- Granul α : jenis granul trombosit yang paling banyak, mengandung *platelet factor-4/PF-4* yang mempunyai aktivitas penetralisir-heparin dan dengan demikian dapat mempotensiasi aksi thrombin, dan faktor mitogenik trombosit yang menstimulasi pertumbuhan sel endotel, sel otot polos dan fibroblas kulit.

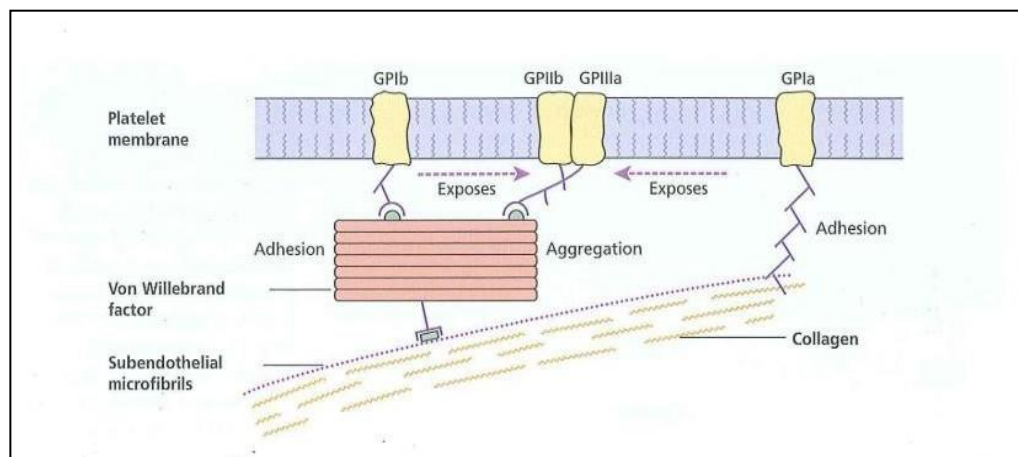
- Granul lysosomal (λ): sedikit lebih besar dari granul *dense* (*moderat electrone-dense*), mengandung asam fosfatase.
- Peroxisomes: granul ini lebih kecil dari granul α dan λ .

Jumlah trombosit normal yang ditemukan dalam sirkulasi 150.000 - 400.000/ul darah, jumlah trombosit sedikit lebih rendah terlihat selama 3 bulan pertama kehidupan. Jumlah trombosit bervariasi pada beberapa individu dari kedua jenis kelamin, pada wanita sedikit lebih tinggi daripada pria. Jumlah trombosit pada wanita sangat bervariasi selama periodisitas 21-35 hari. Jumlah trombosit juga bervariasi secara rasial, misalnya jumlah trombosit lebih rendah pada orang Australia keturunan Mediterania, orang Nigeria daripada orang Kaukasia. Masa hidup trombosit normal adalah 8-10 hari, dan berakhir di lien. (Wickramasinghe. SN, and Erber, 2011)

Trombosit memainkan peran penting dalam mekanisme hemostasis. Ketika sel-sel endotel dinding pembuluh darah rusak, trombosit keluar dan melekat (adhesi) pada jaringan konektif subendothelial (membran basal dan mikrofibrin non-kolagen) melalui *von Willebrand factor* (vWF) yang melekat pada reseptor spesifik pada membran trombosit, GP Ib-IX. Adhesi ini membutuhkan ion kalsium. Adhesi diikuti dalam hitungan detik oleh transformasi lempeng dari bentuk diskoid menjadi bola berduri (proses reversibel yang potensial), dan dalam beberapa menit diikuti dengan pelepasan isi granul trombosit disebut reaksi pelepasan. Reaksi pelepasan dimediasi

melalui tromboksan A2 yang disintesis trombosit dari asam arachidonic yang dilepaskan dari membran fosfolipid (konversi asam arakidonat menjadi tromboksan A2 membutuhkan enzim siklo-oksigenase dan sintase tromboksan).

Pelepasan granul diawali pelepasan *dense bodies*, dan dengan stimulasi yang lebih kuat, beberapa granul α juga dilepaskan. Adenosin difosfat yang dilepaskan dari *dense bodies*, dan trombin yang dihasilkan oleh aktivasi kaskade pembekuan, menyebabkan interaksi trombosit lain dengan trombosit adheren (agregasi trombosit sekunder). (Michelson, 2007)(Wickramasinghe. SN, and Erber, 2011)



Platelet adhesion. The binding of GP-Ib (which consists of four proteins: GPIb α , GPIb β , GPIIX, GPV) to von Willebrand factor leads to adhesion to the subendothelium and also exposes the GPIIb/IIIa (α IIb β integrin) binding sites to fibrinogen and von Willebrand factor leading to platelet aggregation. The GPIa site permits direct adhesion to collagen.

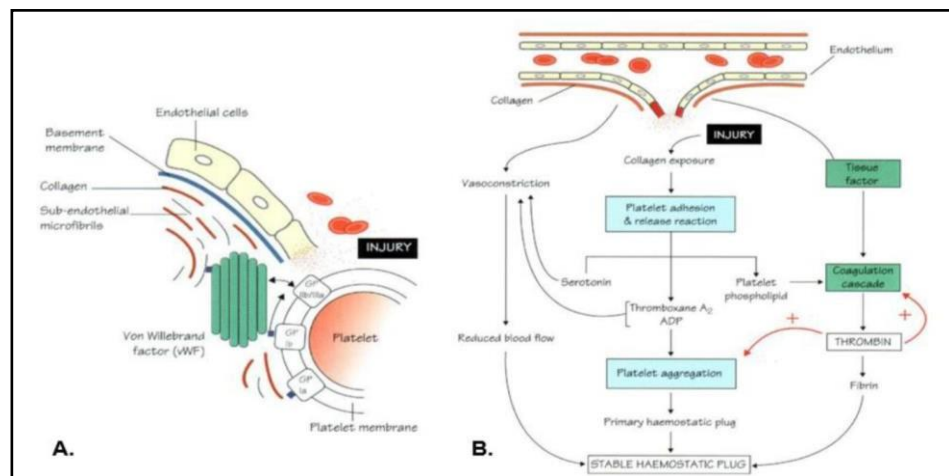
Gambar 3. Adhesi dan Agregasi
(Colvin, 2006)

Agregasi yang diinduksi oleh ADP, didahului oleh perubahan membran sel yang membentuk ikatan *calcium-dependent* dari fibrinogen terhadap reseptor trombosit spesifik pada membran HPA-

$\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ (atau GP-IIb/IIIa) (Gambar 3); molekul fibrinogen menghubungkan trombosit yang berdekatan. Agregasi juga dapat dimediasi oleh pengikatan vWF dan vitronektin pada HPA- $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$. Proses agregasi sekunder berlanjut sampai terbentuk plug trombosit, menutup pembuluh darah yang rusak. Selanjutnya, pembentukan bekuan sekitar plug trombosit, bekuan dimulai oleh *Tissue Factor/TF-VIIa complex*; TF diekspresikan dan faktor VII diaktifkan di lokasi cedera. Fosfolipid membrane trombosit, PF 3 pada platelet agregat memainkan peran dalam pembentukan bekuan ini, (Gambar 4). (Tan, et al, 2012)(Wickramasinghe SN and Erber, 2011) Fosfolipid trombosit berpartisipasi pada: pembentukan faktor Xa melalui reaksi yang melibatkan faktor IXa, VIII, X dan kalsium reaksi antara faktor II, V, Xa dan kalsium. (Wickramasinghe SN and Erber, 2011)

Selain peran utama dalam hemostasis, trombosit memiliki beberapa fungsi lain. Trombosit berpartisipasi dalam pembentukan respon inflamasi dengan melepaskan faktor-faktor yang meningkatkan permeabilitas pembuluh darah dan menarik granulosit. Granul- α trombosit mengandung faktor mitogenik yang dapat meningkatkan regenerasi sel endotel yang rusak/terlepas. Faktor-faktor mitogenik ini juga menstimulasi proliferasi fibroblast dan karenanya dapat meningkatkan penyembuhan luka. Selanjutnya, trombosit menghilangkan zat aktif farmakologi dari lingkungan mikro dengan mengambil dan memusatkan dalam *granul dense*; sehingga berfungsi

sebagai sel 'detoksifikasi'. Trombosit memiliki kapasitas terbatas untuk fagositosis. Trombosit juga berperan dalam proses patologis seperti trombosis dan penolakan transplantasi dan juga terlibat dalam patogenesis aterosklerosis. (Tan, et al, 2012) (Wickramasinghe SN and Erber, 2011)



Gambar 4. A. Adhesi Trombosit; B. Mekanisme Hemostasis
(Hoffbrand, Cavill, 2006)

Fungsi trombosit dapat diuji secara *invivo* atau *invitro*. Fungsi trombosit yang dapat dinilai secara *invitro* antara lain adhesi, agregasi, retraksi bekuan dan kontribusi ke jalur koagulasi intrinsik. Adhesi dan agregasi dengan agregometer, klasifikasi retraksi dinilai dengan mengukur retraksi bekuan. Tromboelastografi adalah tes untuk mengukur perubahan viskoelastik yang disebabkan oleh polimerisasi fibrin dan mengevaluasi fungsi trombosit serta tingkat pembentukan plug, kekuatannya, stabilitas, retraksi dan lisis. (Wickramasinghe SN and Erber, 2011)

2. MEGAKARYOPOIESIS

Megakaryopoiesis adalah proses perkembangan megakaryosit menjadi trombosit dalam sumsum tulang (SST). Manumur menghasilkan 10^{11} trombosit perhari, dan produksi dapat meningkat 20 kali lipat ketika dibutuhkan. Megakariosit berasal dari kaskade diferensiasi dari *megakaryosit-erythroid progenitor* (MEP). Bipoten MEP pada megakaryopoiesis di bawah pengaruh *thrombopoetin* (TPO) sebagai regulator utama produksi trombosit, IL-6 dan IL-11, untuk menghasilkan *megakaryosit colony-forming units* (CFU-MK). *Megakaryosit colony-forming units* adalah populasi sel diploid, sintesis DNA dan divisi *nuclear* (*karyokinesis*) diikuti oleh pembelahan sel (*cytokinesis*). *Megakaryosit colony-forming units* mengalami maturasi lebih lanjut menjadi seri *megakaryoblast*, morfologis paling awal, yang diikuti seri *megakaryosit*. (Michelson, 2007)(Wickramasinghe. SN, and Erber, 2011)(William Vainchenker, et al, 2019)

Urutan maturasi megakaryopoiesis :

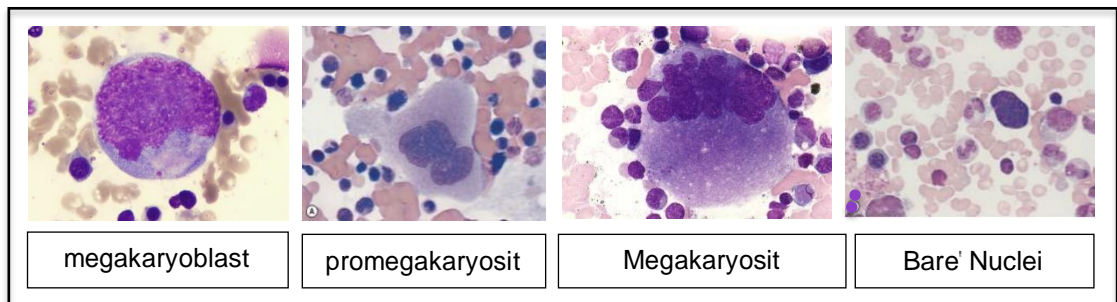
- megakaryoblast
- promegakaryosit
- megakaryosit granular, yang menghasilkan trombosit
- „bare' nuclei

Empat jenis sel megakariositik dapat diidentifikasi pada SST dengan perwarnaan Romanowsky, (Gambar 5)

Sintesis DNA terjadi pada 44% pada megakaryosit, 18% pada promegakaryosit dan hanya 2% megakariosit granular. Sintesis DNA tidak terkait dengan pembelahan sel dan oleh karena itu siklus sintesis DNA menghasilkan produksi sel poliploid mononuclear. Sel-sel poliploid ini menjadi sangat besar untuk memungkinkan sejumlah besar platelet terbentuk; setiap megakariosit menghasilkan trombosit 1000 – 3000. Trombosit, yang terbentuk oleh fragmentasi proses sitoplasma ini, memiliki diameter 1 – 3 μm . Selama pelepasan trombosit, megakariosit granular memproses sitoplasma sinusoid sumsum tulang, lempeng potongan sitoplasma berupa fragmen dan menjadi trombosit. „Bare' nuclear (nukleus hampir 'telanjang' setelah pelepasan sitoplasma) dikelilingi oleh sitoplasma sisa yang mengandung beberapa butiran dan organel lainnya. (Wickramasinghe. SN, and Erber, 2011)

Waktu yang diperlukan megakaryoblast untuk matang menjadi megakariosit granular penghasil platelet adalah sekitar 6 hari. Mayoritas megakaryosit berada di sumsum tulang, beberapa masuk ke sirkulasi melalui sinusoid dan terperangkap di paru-paru; beberapa megakariosit paru menghasilkan trombosit. *Cluster Differentiation* yang berperan pada megakaryosit lineage, adalah GP-IIIa (CD61; integrin $\alpha\text{II}\beta\text{3}$), GP-IIb (CD41; integrin αIIb), GP-Ib (CD42), GP-V dan faktor VIII-terkait antigen. Reseptor trombospondin (CD36; GP-IIIb) dan *platelet-endothelial cell molecule* (PECAM-1; CD31). (Wickramasinghe. SN, and Erber, 2011)

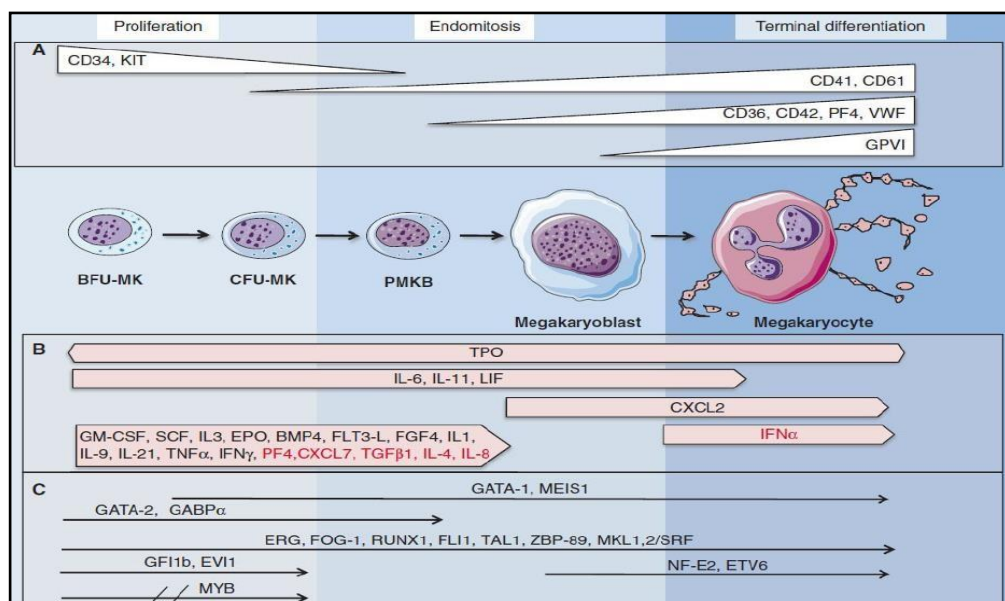
Thrombopoetin adalah suatu GP yang bersifat asam yang diproduksi terutama di hati, ginjal, dan SST. Istilah TPO pertama kali pada tahun 1958 untuk menggambarkan zat humoral yang bertanggung jawab untuk meningkatkan produksi trombosit. Pada tahun 1980-an, dikembangkan uji CFU-MK, memungkinkan identifikasi faktor-faktor pembentuk dan penghambat koloni megakaryosit dari beberapa interleukin yang terlibat dalam trombopoiesis, seperti IL-3, *Granulocyte-macrophage Colony Stimulating Factor* (GM-CSF), IL-6, atau IL-11. (Kaushansky, 2010)(Wickramasinghe. SN, and Erber, 2011)



Gambar 5. Urutan maturasi Megakaryopoiesis
(Wickramasinghe. SN, and Erber, 2011)

Diferensiasi Megakaryosit mengalami masa proliferasi, endomitosis dan diferensiasi terminal. *Thrombopoetin*, IL-6, IL-11 dan *leukemia inhibitory factor* (LIF) berperan dalam semua masa diferensiasi tersebut. Pada fase Proliferasi hingga fase endomitosis mengekspresikan *Differentiation antigen* yaitu CD34, reseptor KIT (reseptor dari *the stem cell factor* [SCF]). *Growth Factors* yang berperan pada fase proliferasi hingga fase endomitosis yaitu GM-CSF, *stem cell factor* (SCF), IL-3, *erythropoietin* (EPO), *bone morphogenetic*

protein-4 (BMP4), Fms like tyrosine kinase 3 Ligand (FLT3-L), fibroblast growth factor-4; (FGF4), IL1, IL-9, IL-21, Tumor Necrosis Factor alfa (TNF α), Interferon gamma (IFN γ), Platelet Factor 4 (PF4), (C-X-C motif) chemokine Ligand 7 (CXCL7), Transforming Growth Factor Beta 1 (TGFB1), IL-4 dan IL8; dan Transcription Factors. Ketelibatan Growth Factors makin berkurang hingga memasuki fase diferensiasi terminal. Pada fase diferensiasi terminal ekspresi Differentiation antigen yaitu CD36, CD42, PF4, vWF dan GPVI. Growth Factor yang berperan pada fase terminal differentiatio yaitu IF α . Ekspresi differentiation antigen CD41, CD61 pada fase endomitosis dan diferensiasi terminal (Gambar 6). (William V, et al, 2019)



Keterangan :: Differentiation antigens (A), growth factors (B), and transcription factors (C). BFU-MK, burst-forming unit megakaryocytes; BMP4, bone morphogenetic protein 4; CFU-MK, colony-forming unit megakaryocytes; CXCL2, (C-X-C motif) chemokine Ligand 2; EPO, erythropoietin; FLT3-L, Fms like tyrosine kinase 3 Ligand; FGF4, fibroblast growth factor 4; GABP, GA-binding protein; GM-CSF, granulocyte macrophage colony-stimulating factor; GP, glycoprotein; IL, interleukin; IFN, interferon; LIF, leukemia inhibitory factor; PF4, platelet factor 4; PMKB, promegakaryoblast; SCF, stem cell factor; TNF, tumor necrosis factor; TPO, thrombopoietin; vWF, von Willebrand factor

Gambar 6. Ilustrasi Diferensiasi Megakaryosit
(William Vainchenker, et al, 2019)

3. ANTIGEN TROMBOSIT

Trombosit seperti halnya eritrosit dan netrofil, juga memiliki antigen spesifik yang diekspresikan pada lapisan permukaan membran sel. Membran sel trombosit terdiri dari Glikoprotein (GP) dan Fosfolipid. Integrin adalah heterodimer membran GP, masing-masing terdiri dari subunit alfa (α) dan beta (β) yang terkait secara nonkovalen. (Kunichi TJ, 2007)

Glikoprotein membran trombosit bertindak sebagai reseptor yang memediasi dua fungsi penting, yaitu adhesi pada matriks subendothelial dan kohesi, atau agregasi. Trombosit mengandung lima anggota family integrin, yaitu reseptor kolagen (GP Ia-IIa; $\alpha 2, \beta 1$), reseptor fibronektin (GP Ic-IIa; $\alpha 5, \beta 1$), reseptor laminin (GP Ic-IIa ; $\alpha 6, \beta 1$), reseptor vitronektin (VnR; $\alpha v, \beta 3$), dan reseptor yang tergantung pada aktivasi. Reseptor yang paling bertanggung jawab untuk kohesi trombosit yang bergantung pada fibrinogen adalah $\alpha IIb\beta 3$ (GP-Ib-IIIa). Trombosit juga mengandung GP Ib-IX, reseptor untuk faktor von Willebrand, yang dianggap sebagai reseptor yang paling bertanggung jawab untuk adhesi trombosit ke matriks subendothelial; GP V, yang dapat dikaitkan dengan GP Ib-IX dan fungsinya tidak diketahui; dan GP IV (GP IIIb), yang berfungsi sebagai reseptor untuk trombospondin dan kolagen. Integrin GP terbanyak pada membran trombosit adalah GPIIb-IIIa, menyusul GPIa-IIa, dan GPIb-IX. Pada GP trombosit terdapat antigen yang berkontribusi pada mekanisme imunogenik

trombosit yang disebut *Human Platelet Antigen* (HPA). (Kunichi TJ, 2007)(Shaiegan, et al, 2011)

1) Glikoprotein-IIb/IIIa

Glikoprotein-IIb (integrin α IIb, CD-41) dan GP-IIIa (integrin β IIIa, CD-61), dikode oleh gen *Integrin Alpha-2B (ITGA2B)* dan *Integrin Beta-3 (ITGB3)*, dan keduanya berada pada kromosom 17. GP-IIb dan IIIa membentuk suatu kompleks ikatan kalsium dependen non kovalen (GP-IIb/IIIa) pada permukaan trombosit yang merupakan reseptor untuk ligan molekul fibrinogen, vitronektin, fibronektin, dan *von Willebrand Factor* (VWF). Kompleks GP-IIb/IIIa berperan sebagai reseptor untuk ligand yang penting dalam fungsi hemostasis dan inflamasi. Umumnya HPA yang sudah diidentifikasi diekspresikan oleh GP-IIb dan GP-IIIa. (Curtis and McFarland, 2014)

Kompleks heterodimer ini merupakan antigen GP yang paling imunogenik, mungkin disebabkan oleh densitas yang tinggi dari GP-IIb/IIIa pada permukaan trombosit, ≈ 80.000 molekul yang diekspresikan pada tiap trombosit. Epitop pada GP-IIb/IIIa adalah target antibodi yang paling sering dideteksi pada semua penyakit imun trombosit. (Curtis and McFarland, 2014)

2) Antigen pada GP-Ib/V/IX

Integrin GP-Ib/V/IX merupakan reseptor vWF, yang mengikat mediator-vWF trombosit, menyebabkan adhesi pada sisi pembuluh darah yang mengalami luka/trauma. Kompleks GP-Ib/V/IX disusun oleh empat

komponen yang merupakan protein *leusin-rich repeat*, yaitu ikatan beta (GP-Ib- β , CD-42c) disulfida pada suatu rantai alfa (GP-Ib- α , CD-42b) yang secara nonkovalen membentuk suatu kompleks dengan GP-IX (CD-42a) dan GP-V (CD-42d). Terdapat ≈ 25.000 molekul GP-Ib/V/IX pada tiap permukaan trombosit. Untuk GP-Ib- β dikode oleh *GP1BB* pada kromosom 22, GP-Ib- α dikode oleh *GP1BA* pada kromosom 17, dan GP-IX dikode oleh *GP9* pada kromosom 3. Polimorfisme GP-Ib- β akan menyebabkan variasi pada epitop HPA-12. Mutasi GP-Ib- α , GP-Ib- β , atau GP-IX menyebabkan defisiensi pada kompleks ini dan menyebabkan kelainan perdarahan *Bernard-Soulier Syndrom (BSS)*. (Curtis and McFarland, 2014)

3) Antigen pada GP-Ia/IIa

Glikoprotein-Ia/IIa merupakan protein integrin ($\alpha 2\beta 1$, CD49b/CD29). GP-Ia/IIb adalah suatu reseptor kolagen utama pada trombosit yang berperan pada proses hemostasis primer awal. Glikoprotein-Ia dikode oleh *ITGA2* pada kromosom 5 dan GP-IIa dikode oleh *ITGB1* pada kromosom 9. Glikoprotein-Ia mempunyai HPA-5a/b, dan konsentrasi GP-Ia/IIb berkisar 3000-5000 molekul pada tiap permukaan trombosit. Glikoprotein-Ia/IIa juga terdapat pada beberapa tipe sel, seperti pada T-limfosit yang aktif. Glikoprotein-IIa tidak bersifat polimorfisme, sehingga tidak ada variasi epitop yang dihasilkan. Polimorfisme GPIa akan menyebabkan variasi epitop HPA-5 dan HPA-13. Polimorfisme HPA-

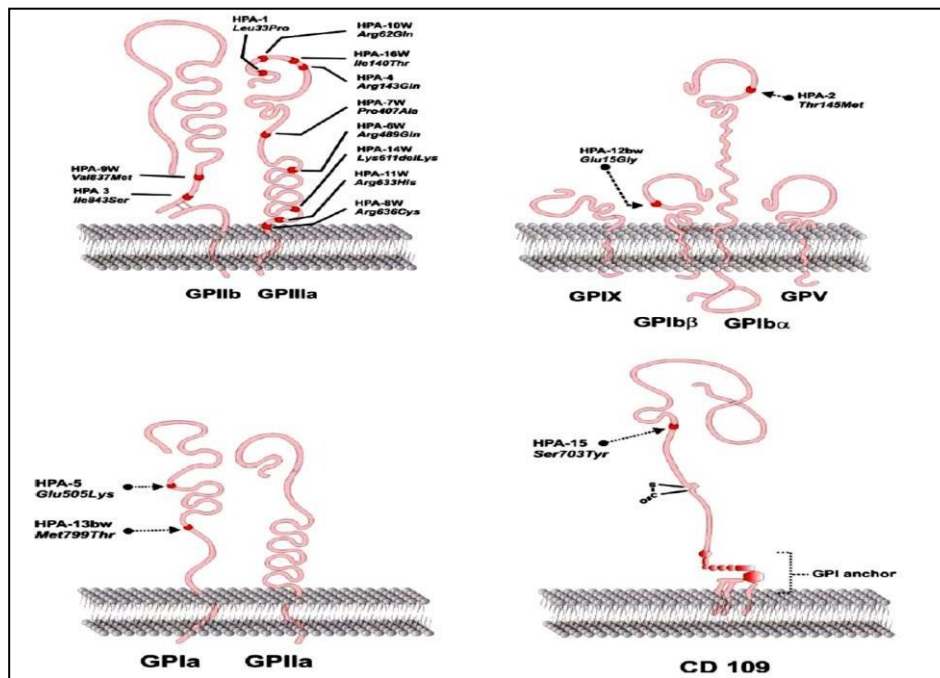
13bw menyebabkan disfungsi trombosit pada kolagen. (Curtis and McFarland, 2014)

4) Antigen pada CD-109

Cluster Differentiation-109 adalah suatu ikatan protein-*glycosylphosphatidyl-inositol* (GPI) yang berukuran 175 kDa, yang dikode oleh *CD109* pada kromosom 6. Terdapat ≈ 1000 molekul CD-109 pada tiap permukaan trombosit, merupakan superfamily dari *alpha2-macroglobulin/complement*. Fungsi yang tepat dari ikatan protein-GP-I CD109 tidak diketahui, kemungkinan berperan dalam interaksi antar sel, lebih banyak ditemukan pada limfosit T yang teraktivasi *CD34⁺ hematopoietic cell* dan sel endotel, CD109 membawa HPA-15. (Curtis and McFarland, 2014)

5) Antigen pada GPIV (CD36)

Glikoprotein lain yang terekspresi pada trombosit adalah GPIV (CD36), selain terdapat pada trombosit juga pada monosit/makrofag dan eritrosit berinti. Glikoprotein-IV dikode oleh *CD36* pada kromosom 7. Glikoprotein-IV berikatan dengan beberapa ligan seperti *Low Density Lipoprotein* (LDL), kolesterol, thrombospondin, kolagen tipe I dan IV, dan eritrosit yang terinfeksi malaria. (Curtis and McFarland, 2014)



Gambar 7. Skema representasi substitusi asam amino yang menentukan *Human Platelet Antigen* (HPA) (Greer JP, et al, 2009)

4. HUMAN PLATELET ANTIGEN (HPA)

Human Platelet Antigen adalah bentuk polimorfisme imunogenik dari GP dan fosfolipid membran trombosit, masing-masing terdiri dari sub-unit α dan β yang tidak terkait secara konvensional. Alel frekuensi yang lebih tinggi ditetapkan sebagai “ α ” (seperti HPA-1 α) dan alel frekuensi rendah “ β ” (seperti HPA-1 β). Frekuensi alel HPA dapat bervariasi di antara kelompok ras yang berbeda misalnya, HPA-1 β diekspresikan pada trombosit sekitar 15% orang-orang keturunan Eropa, tetapi kurang dari 1% pada orang keturunan Asia.(Kunichi TJ, 2007)

Tabel.1 Sistem Tatanama *Human Platelet Antigen*

Alloantigen	Allelic forms	Synonim	Phenotypic frequency	GP Location Amino Ac. Change	Nucleotide Substitution
HPA-1	HPA-1 α HPA-1 β	PI ^{A1} ,Zw ^a PI ^{A2} ,Zw ^b	72% α / α 26% α / β 2% β / β	GP1IIa /Leu ³³ GP1IIa/Pro ³³	T ¹⁹⁶ (196T>C) C ¹⁹⁶
HPA-2	HPA-2 α HPA-2 β	Ko ^b Ko ^a , Sib ^a	85% α / α 14% α / β 1% β / β	GP1b/Thr ¹⁴⁵ GP1b/Met ¹⁴⁵	C ⁵²⁴ (524C>T) T ⁵²⁴
HPA-3	HPA-3 α HPA-3 β	Bak ^a , Lek ^a Bak ^b	37% α / α 48% α / β 15% β / β	GP1Ib/Ile ⁸⁴³ GP1Ib/Ser ⁸⁴³	T ²⁶²² (2622T>G) G ²⁶²²
HPA-4	HPA-4 α HPA-4 β	Yuk ^b , Pen ^a Yuk ^a , Pen ^b	>99% α / α 0.1% α / β 0.1% β / β	GP1IIa/Arg ¹⁴³ GP1IIa/Gln ¹⁴³	G ⁵²⁶ (526G>A) A ⁵²⁶
HPA-5	HPA-5 α HPA-5 β	Br ^b , Zav ^b Br ^a , Zav ^a , HC ^a	80% α / α 19% α / β 1% β / β	GP1a/Glu505 GP1a/Lys505	G ¹⁶⁴⁸ (1648G>A) A ¹⁶⁴⁸
HPA-6	HPA-6bw	Ca ^a , Tu ^a	1% β / β	GP1IIa/Gln489 GP1IIa/Arg489	A ¹⁵⁶⁴ (1564A>G) G ¹⁵⁶⁴
HPA-7	HPA-7bw	Mo ^a	1% β / β	GP1IIa/Ala ⁴⁰⁷ GP1Ib/Pro ⁴⁰⁷	G ¹³¹⁷ (1317G>C) C ¹³¹⁷
HPA-8	HPA-8bw	Sr ^a	<1% β / β	GP1IIa/Cys ⁶³⁶ GP1IIa/Arg ⁶³⁶	T ²⁰⁰⁴ (2004T>C) C ²⁰⁰⁴
HPA-9	HPA-9bw	Max ^a	<0.1% β / β	GP1b/Met ⁸³⁷ GP1b/Val ⁸³⁷	A ²⁶⁰³ (2603A>G) G ²⁶⁰³
HPA-10	HPA-10bw	La ^a	1% β / β	GP1IIa/Gln ⁶² GP1IIa/Arg ⁶²	A ²⁸¹ (281A>G) G ²⁸¹
HPA-11	HPA-11bw	Gro ^a	<1% β / β	GP1IIa/GPHis ⁶³³ GP1IIa/Arg ⁶³³	A ¹⁹⁹⁶ (1996A>G) G ¹⁹⁹⁶
HPA-12	HPA-12bw	Iy ^a	<1% β / β	GP1b/Glu ¹⁵ Gly ¹⁵ GP1b/Gly ¹⁵	A ¹⁴¹ (141A>G) G ¹⁴¹
HPA-13	HPA-13bw	Sit ^a	<1% β / β	GP1a/Met ⁷⁹⁹ GP1a/Thr ⁷⁹⁹	T ²⁵³¹ (2531T>C) C ²⁵³¹
HPA-14	HPA-14bw	Oe ^a	<1%	GP1IIa/ Δ Lys ⁶¹¹ GP1IIa/Lys ⁶¹¹	Δ AAG ¹⁹²⁹⁻³¹ AAG ¹⁹²⁹⁻³¹
HPA-15	HPA-15 α HPA-15 β	Gov ^b Gov ^a	35% α / α 42% α / β 23% β / β	CD109/Ser707 CD109/Thr703	C ²¹⁰⁸ (2108C>A) A ²¹⁰⁸
HPA-16bw		Duv ^a Va ^a Pe ^a	<1%	GP1IIa/Ile140 GP1IIa/Thr140	T ⁵¹⁷ (517T>C) C ⁵¹⁷
HPA-17bw			<1%	GP1IIa /Thr ¹⁹⁵ GP1IIa /Met ¹⁹⁵	C ⁶²² (622 C>T) T ⁶²²
HPA-18bw			<1%	GP1a/Q716H	G ²²³⁵ (2235 G>T) T ²²³⁵
HPA-19bw			<1%	GP1IIa/K137Q	A ⁴⁸⁷ (487 A>C) A ⁴⁸⁷
HPA-20bw			<1%	GP1b/T619M	C ¹⁹⁴⁹ (1949 C>T) T ¹⁹⁴⁹
HPA-21bw			<1%	GP1IIa/G628K	G ¹⁹⁶⁰ (1960 G>A) A ¹⁹⁶⁰

“Phenotypic frequencies for the antigen system shown are for the Caucasian population only

Sumber : (Curtis and McFarland, 2014) (Kunichi TJ, 2007)

Human Platelet Antigen-3 β frekuensi yang sangat rendah ditemukan pada orang Aborigin. *Human Platelet Antigen-3 β* diidentifikasi tinggi pada etnis Asia, kulit putih, Amerindian, orang kulit

hitam Amerika, dan Afrika Utara. *Human Platelet Antigen-3a* adalah paling sering ditemukan pada alloimunisasi pada orang kulit putih. Frekuensi tertinggi HPA-5 β ditemukan di Afrika Tengah, Aborigin, Afrika Utara, dan orang Amerika kulit hitam. Frekuensi rendah ditemukan pada kulit putih dan orang Asia Tenggara, dan frekuensi terendah pada orang Asia, Amerindians, dan Amerika utara. (Kunichi TJ, 2007)

Di Asia, 12 HPA dikelompokkan menjadi enam binal (HPA-1 α /1 β , 2 α /2 β , 3 α /3 β , 4 α /4 β , 5 α /5 β , dan 15 α /15 β). (Kunichi TJ, 2007) Hasil penelitian Rachmawati M., Mansyur A., 2019, pada populasi donor di Makassar, menunjukkan frekuensi HPA-1 α (100%), HPA-2 α (100%), HPA-2 β (80,83%), HPA-3 α (75,83%), HPA-3 β (57,5%), HPA-4 α (99,17%), dan HPA-5 α (39,17%) sampel penelitian mewakili semua suku (Bugis, Makassar, Mandar, dan Toraja) di Makassar.

B. TROMBOSITOPENIA

Trombositopenia di definisikan sebagai jumlah trombosit sirkulasi darah di bawah normal (<150.000/ μ L). Trombositopenia disebabkan antara lain oleh kegagalan produksi trombosit, peningkatan konsumsi trombosit, distribusi trombosit abnormal, dan peningkatan destruksi trombosit. (Gupta, et al, 2008)

The National Cancer Institute, membagi derajat trombositopenia berdasarkan jumlah trombosit, yaitu derajat 1 (75.000-150.000/ μ L), derajat

2 (50.000-<75.000/ μ L), derajat 3 (25.000-<50.000/ μ L), derajat 4 (<25.000/ μ L). Semakin rendah jumlah trombosit maka semakin tinggi resiko terjadinya perdarahan. (Neunert, 2017)(Warrier and Chauhan, 2012)

Trombositopenia artifaktual adalah jumlah trombosit sangat rendah terjadi secara ex-vivo ketika trombosit tidak dihitung secara akurat. Hal ini perlu dipertimbangkan pada pasien dengan trombositopenia berat tetapi tidak memberi gejala petekie atau ekimosis. Trombositopenia artifaktual dapat disebabkan oleh trombosit dengan ukuran besar, agregasi trombosit karena penggunaan antikoagulan (pseudo trombositopenia). Pada trombositopenia artifaktual harus dilakukan tes konfirmasi morfologi darah tepi. (Rodgers, 2019)

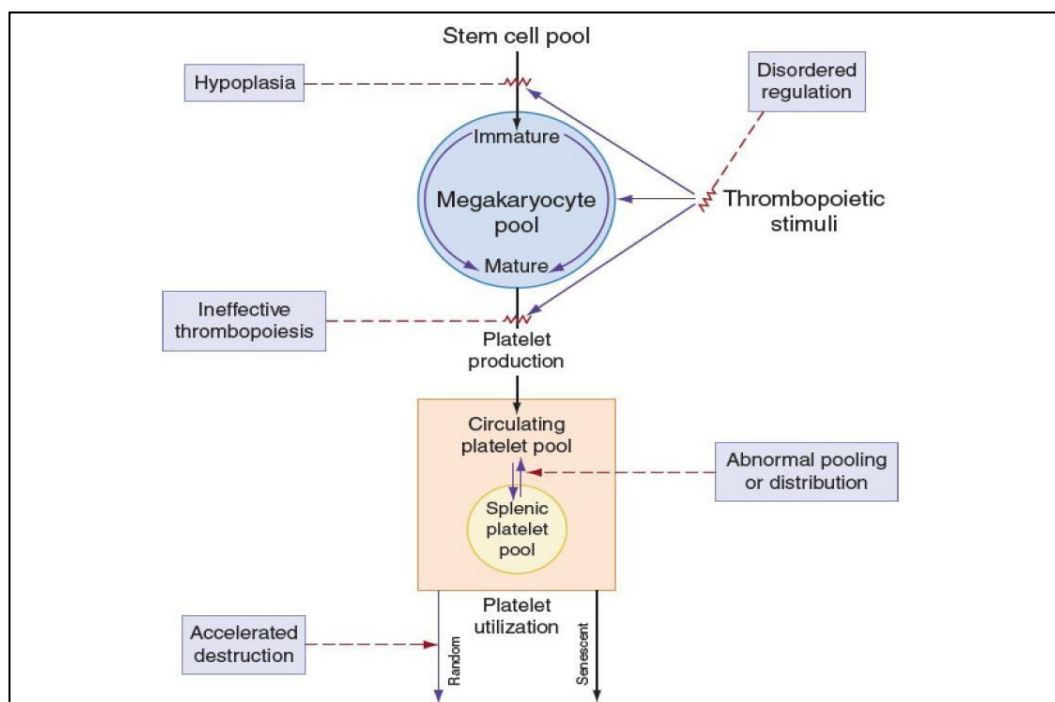
Kegagalan produksi trombosit disebabkan oleh depopulasi stem sel atau kegagalan proliferasi megakaryosit. Penyebab tersering adalah cedera sumsum tulang akibat obat myelosupresif atau iradiasi. (Rodgers, 2019)

Peningkatan konsumsi trombosit, terjadi pada trauma yang menyebabkan kerusakan endotel pembuluh darah sehingga terjadi mobilisasi trombosit sebagai fungsi hemostasis. Peningkatan konsumsi trombosit juga terjadi pada proses inflamasi. (Gupta, et al, 2008) (Rodgers, 2019)

Distribusi trombosit abnormal atau distribusi in vivo yang abnormal dapat memberikan gambaran trombositopenia yang secara total meskipun pada dasarnya massa trombosit normal. Penyebab tersering

dari distribusi trombosit abnormal adalah gangguan yang berhubungan dengan splenomegali. (Rodgers, 2019)

Penyebab trombositopenia paling sering adalah peningkatan destruksi trombosit. Hal ini menyebabkan stimulasi trombopoiesis dan peningkatan jumlah, ukuran dan tingkat pematangan prekursor megakaryosit. Ketika tingkat kerusakan trombosit melebihi kompensasi trombositopenia berkembang menjadi trombosit kompensasi. Kerusakan trombosit dapat terjadi akibat defek intrakorpuskuler dan ekstrakorpuskuler. Penyebab tersering destruksi trombosit ekstrakorpuskuler yaitu kausa imun. (Rodgers, 2019)



A simplified diagram of the biodynamics of the megakaryocyte-platelet system (solid lines) and the mechanisms (dashedlines) by which pathologic processes (shaded blocks) produce thrombocytopenia.

Gambar 8. Patofisiologi Trombositopenia (Rodgers, 2019)

Immune Thrombocytopenic atau ITP adalah penyakit yang disebabkan oleh peningkatan destruksi trombosit karena kompleks imun, antigen antibodi, pada membran trombosit. Sebelumnya disebut *Idiopathic Thrombocytopenia Purpura*, tetapi saat ini setelah patomekanisme penyebab sudah lebih tersingkap, sehingga dikenal dengan *Immune Thrombocytopenic*. Secara patomekanismenya ITP dibagi atas ITP primer dan sekunder. (Bergmann, et al, 2010)(Carverly, 2019)

1. PRIMARY IMMUNE THROMBOSITOPENIC /ITP PRIMER

1) Defenisi

Primary Immune Thrombocytopenic atau *Autoimmune Thrombocytopenic* (AITP) atau ITP Primer, merupakan salah satu penyakit autoimun yang ditandai dengan jumlah trombosit kurang dari 100.000/ μ L yang tidak disebabkan oleh penyakit lain. (berdasarkan konsensus panel *International Working Group* (IWG), 2009). (Bergmann, et al, 2010)(Carverly, 2019)

2) Epidemiologi

Insiden ITP primer adalah 100 kasus per 1 juta orang pertahun dan setengah dari kasus ini terjadi pada anak-anak. (Farid, et al, 2012) Angka kejadian meningkat dari tahun ke tahun. Berdasarkan data *World Health Organization* (WHO), angka kejadian dilaporkan 1.8 kasus/1000 persalinan di Finlandia.

Insiden ITP primer di Amerika Serikat diperkirakan 1,6 per 10.000 pertahun. Insiden memuncak di musim dingin dan musim semi, mengikuti kejadian infeksi virus. *Immune Thrombocytopenic* akut paling umum pada umur 2 – 6 tahun. Sekitar 7% hingga 28% ITP anak-anak berkembang menjadi kronis. *Immune Thrombocytopenic* kronis, berlangsung lebih dari 6 bulan. Menurut Carverly, 2019, ITP primer pada orang dewasa umur rata-rata 40 – 45 tahun, 74% dari 934 kasus lebih muda dari umur 40. Rasio pada wanita berbanding pria hampir sama, sedangkan pada ITP primer kronis 2-3:1. Peningkatan progresivitas penyakit sama pada kedua gender pada populasi yang lebih tua. (Carverly, 2019)

Di Indonesia, Insiden ITP primer akut pada anak, 4 – 5,3 kasus per 100.000 per tahun, distribusi hampir sama antara pria (52%) dan wanita (48%). Sekitar 7 – 28% berkembang menjadi kronik, sehingga diperkirakan terjadi pada 3 – 4 dari 100.000 kasus ITP primer dewasa per tahun (Perhimpunan Dokter Spesialis Penyakit Dalam Indonesia, 2007). Insiden meningkat pada dewasa seiring dengan bertambahnya umur, antara umur 18 – 65 tahun dan pada wanita lebih banyak dibandingkan dengan pria (2,6 : 1). (Hashemi, et al, 2011)

3) Etiologi dan Patomekanisme

Seperti halnya penyakit autoimun lainnya adalah ITP terjadi akibat kegagalan *self tolerans* (toleransi diri). Reaksi autoimun dapat dipicu oleh stimuli genetik dan lingkungan, antara lain infeksi, umumnya

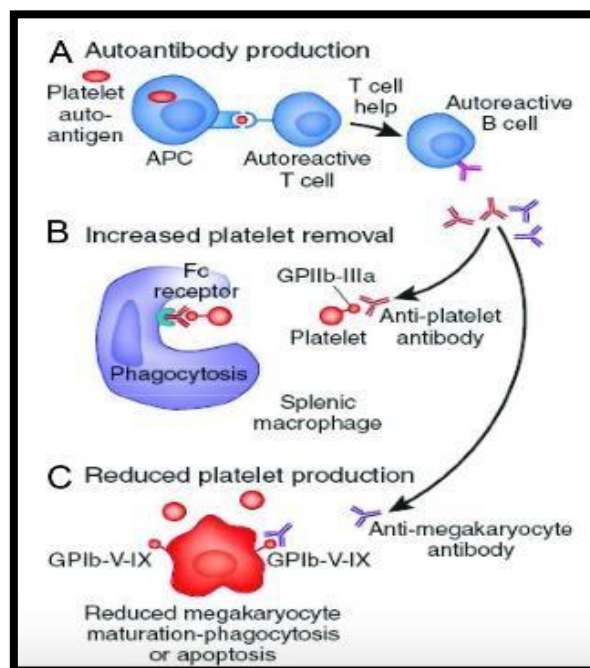
terjadi pada individu yang rentan. (Abbak A.K, et al, 2015) (Liu, et al, 2014)

Berdasarkan temuan sebelumnya, telah dilaporkan adanya keterlibatan faktor genetik dengan kejadian ITP. Dilaporkan adanya reseptor terhadap polimorfisme pada MHC, *Factor crystalin γ reseptor* ($Fc\gamma$), *transcription factors*, *kemokines*. Sitokin proinflamasi dikaitkan dengan angka kejadian ITP, adanya protein regulator polimorfisme seperti fosfatase PTPN22 dilaporkan dengan angka kejadian ITP. Epitop spesifik pada HPA juga telah dikaitkan dengan ITP akut dan kronis. Dilaporkan juga adanya variasi tingkat beberapa mRNA, non-coding RNA yang mengatur gen pada tingkat pasca transkripsi, sebagai salah satu faktor kejadian ITP. Variasi mRNA ini menyebabkan disregulasi sitokin terlibat dalam respon imun, seperti Interferon- γ (IFN- γ), IL-21, IL-1 β atau TGF- β (Audia, et al, 2017)

Penyimpangan imunologi utama pada semua penyakit autoimun adalah kegagalan mekanisme toleransi diri, pada sel T atau B, yang menyebabkan ketidakseimbangan antara aktivasi dan kontrol limfosit. Toleransi terhadap *self antigen* (antigen diri) biasanya diatur oleh proses seleksi yang mencegah pematangan beberapa *self antigen specific lymphocytes* dengan mekanisme yang menonaktifkan atau memusnahkan *self antigen specific lymphocytes* yang matang. Hilangnya toleransi diri dapat terjadi jika *self antigen specific lymphocytes* tidak dimusnahkan atau aktif selama atau setelah

maturasinya, dan *Antigen Presenting Cell* (APC) mempresentasikan antigen diri terhadap sistem kekebalan tubuh dengan cara immunogenik. (Abbas A.K, 2015)

Beberapa penyakit autoimun secara genetik terkait dengan *Major Histocompatibility Complex* (MHC) (kompleks *Human Leucocyte Antigen* (HLA)). Fungsi molekul MHC adalah untuk menyajikan antigen peptida ke sel T. Kegagalan toleransi diri dalam limfosit T menjadi dasar penyakit autoimun, yang pada keadaan lanjut menyebabkan kerusakan jaringan disebabkan oleh reaksi imun seluler. Abnormalitas sel *T Helper Lymphocyte* (Th) juga dapat menyebabkan produksi autoantibodi karena sel Th diperlukan untuk produksi antibodi yang mempunyai afinitas tinggi terhadap antigen protein. (Abbas A.K, 2015)



Gambar 9. Mekanisme Disregulasi Imun pada ITP (Neunert, 2013)

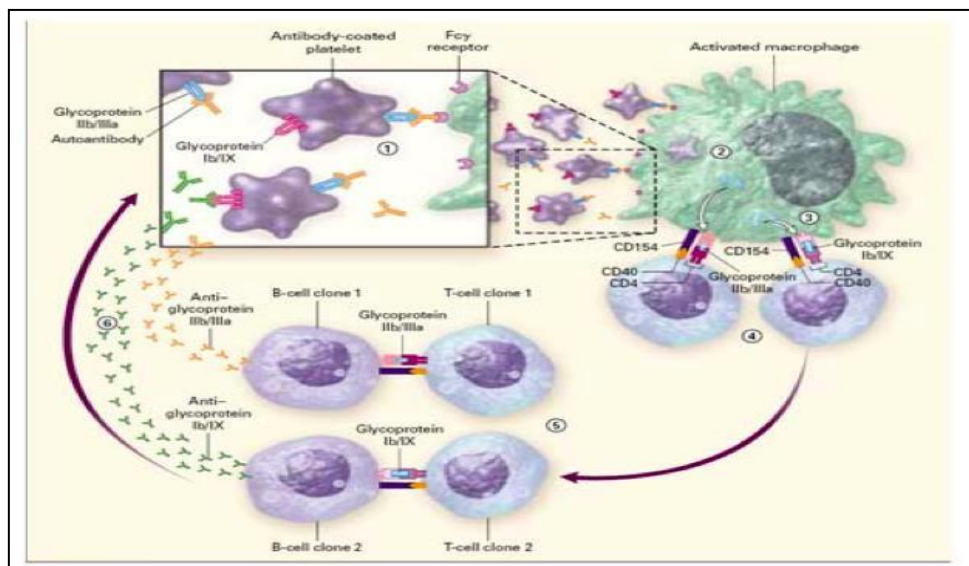
Immune Thrombocytopenic primer merupakan penyakit autoimun yang disebabkan adanya destruksi trombosit abnormal akibat adanya antibodi (*antibody-mediated destruction of platelets*) dan gangguan produksi megakariosit. Perubahan imunologik terjadi diawali oleh adanya rangsangan inflamasi atau situasi stress (terkait dengan infeksi, obat dll) merubah glikoprotein trombosit tertentu menjadi autoantigen yang memicu respon imun. Akibat disregulasi imun, rasio gen T helper yang meningkat, yang menyebabkan hilangnya toleransi sistem imun terhadap antigen diri yang berada di permukaan trombosit dan megakariosit. Sel T teraktivasi akibat pengenalan antigen spesifik trombosit pada APC yang kemudian menginduksi ekspansi antigen-spesifik pada sel B. Sel B akan menghasilkan autoantibodi yang spesifik terhadap glikoprotein trombosit (Alvina, 2011) (Neunert et al, 2013).

Trombosit yang bersirkulasi diikat oleh autoantibodi trombosit. Autoantibodi trombosit tersebut pada tahap awal, mengikat antigen yang melimpah yang ditemukan pada permukaan trombosit yaitu pada Integrin HPA- α IIb β 3. Trombosit yang berikatan dengan antibodi, kemudian dikenali oleh *Antigen Presenting Cell* (APC) melalui faktor kristalin reseptor mengaktifkan makrofag. Trombosit kemudian mengalami internalisasi dan degradasi. (Alvina 2011) (Sari, 2018)

Proses yang terjadi selanjutnya, APC merangsang pembentukan autoantibodi tidak hanya terhadap HPA- α IIb β 3 (GP-IIb/IIIa) tetapi juga pada GP-Ib/IX. Aktivasi APC dibantu oleh kostimulator (interaksi antara

CD154 dan CD40) mengekspresikan protein pada permukaan makrofag. Autoantibodi trombosit tidak hanya mengikat trombosit tetapi juga mengikat megakaryosit mengurangi kemampuan megakaryosit untuk menghasilkan trombosit sehingga dapat menghambat maturasi atau dapat menyebabkan lisis megakaryosit. Adanya autoantibodi trombosit, terutama IgG terhadap Integrin GP- α IIb β 3 (GPIIb/IIIa) atau GP-Ib/IX GP, ditemukan pada 50-70% pasien. (George and Rascob, 1998)(Johnsen, 2012)(Zufferey, et al, 2017)

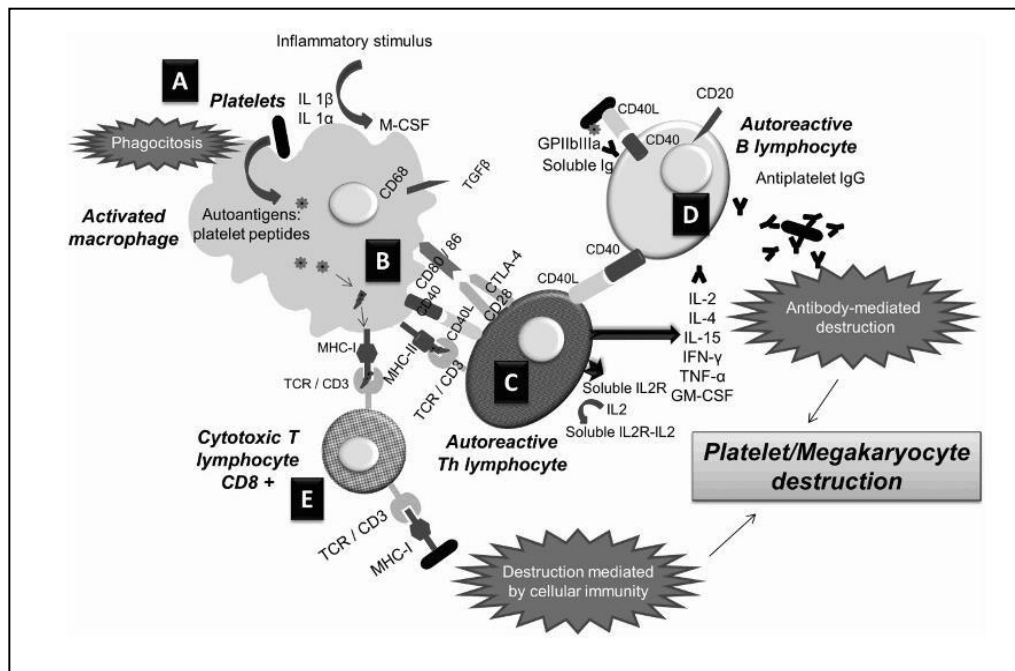
Antigen Presenting Cell (Makrofag yang teraktivasi) akan memproses autoantigen trombosit ini dan mempresentasikannya pada molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC) kelas I dan II. Sel *T helper* dengan *T-cell-receptor* spesifik untuk antigen trombosit teraktivasi dan menjadi autoreaktif, memicu sekresi sitokin. (Perera M,2017).



Gambar 10. Patofisiologi terjadinya ITP
(George and Rascob, 1998)(Alvina, 2011)

Sitokin yang dihasilkan pada proses pembentukan antibodi anti-HPA masih dalam penelitian, beberapa penelitian, antara lain menyatakan keterlibatan Interleukin (IL)-4, IL-10, IL-1Ra, IL-1 β ekson 5 dikaitkan dengan ITP. (Yadav, et al, 2017) Penelitian lain menyatakan adanya polimorfisme *Human Leucocyt Antigen* (HLA), reseptor Fc γ , dan *Tumor Necrosis Factor* (TNF) berhubungan dengan ITP.(Foster, et al, 2001)(Yang and Li, 2002) Zufferey, et al, 2017 pada penelitiannya menunjukkan konsentrasi yang tinggi IL-2 dan interferon (IFN) pada serum pasien ITP.

Sitokin sebagai ko-stimulan untuk sel limfosit B. Sel B yang teraktivasi dan menjadi autoreaktif mengenali glikoprotein trombosit dan memulai produksi autoantibodi (terutama Imunoglobulin-G) yang merusak trombosit dan megakariosit melalui respon humoral. Secara bersamaan, makrofag yang teraktivasi (APC) akan mempresentasikan autoantigen trombosit pada sel T sitotoksik dan mengaktifkannya, memicu destruksi trombosit melalui respon seluler. Sekitar 25% pasien Trombositopenia autoimun primer tidak memiliki autoantibodi terhadap trombosit yang dapat dideteksi. (Perera M,2017)



Gambar 11. Perubahan pada ITP
(Perera. M, 2017)

Interleukin-1 adalah sitokin yang terlibat dalam stimulasi megakaryopoiesis, regulasi produksi trombosit, dan generasi autoantibodi. Derivat IL-1 terdiri dari, IL-1 α , IL-1 β , dan IL-1Ra, dan masing-masing memainkan peran fungsional yang berbeda dalam penyakit autoimun. Peneliti menemukan keterlibatan IL-1 β -31 dan IL-1Ra menunjukkan hubungan yang signifikan ITP berat. (Yadav, et al, 2017)

4) Diagnosis

Menurut pedoman *International Working Group*, tahun 2009, ITP secara klinis dikelompokkan menjadi tiga jenis yaitu : (Rodhegiero, et al, 2009)

- Kasus baru didiagnosis (akut, umumnya terjadi pada anak),

- Persisten (berlangsung antara 3-12 bulan sejak diagnosis, dan tidak tercapai remisi spontan setelah pengobatan 3-12 bulan dari diagnosis)
- Kronis (berlangsung lebih dari 12 bulan)

Diagnosis ITP primer adalah diagnosis yang bersifat eksklusif yaitu setelah penyebab trombositopenia lain disingkirkan, baik pada anak maupun dewasa. Riwayat penyakit dan pemeriksaan fisis saat pertama kali datang adalah kombinasi *diagnostic tool* yang paling penting. Gambaran atipikal pada pasien harus menjadi petunjuk bagi klinisi dalam pendekatan diagnosis. Diagnosis ditegakkan berdasarkan anamnesis, pemeriksaan fisis dan pemeriksaan penunjang. Pada anamnesis, biasanya pasien datang dengan keluhan adanya perdarahan yang terjadi secara tiba-tiba. Lamanya perdarahan dapat membantu untuk membedakan kasus akut dan kronik, serta tidak terdapatnya gejala sistemik untuk menyingkirkan ITP sekunder (Rodeghiero, et al, 2009).

Diagnosis ITP primer ditegakkan setelah penyebab trombositopenia lain dapat disingkirkan. Kriteria diagnosis untuk menegakkan ITP primer adalah : (Hashemi A, Kasgar F, and Souzani A, 2011)

- Trombositopenia tanpa disertai kelainan dari sel darah lainnya
- Tidak ditemukannya hepatosplenomegali dan limfadenopati

- Memberikan respon positif pada pemberian terapi klasik (Autoimmunoglobulin Intravena, anti-D intravena, dan steroid)

Berdasarkan perlangsungannya ITP primer dibagi atas akut dan kronis (Carverly, 2019)

Tabel 2. Immune Thrombocytopenic

Feature	Acute	Chronic
<i>Peak age of incidens</i>	<i>Children 2-6 y</i>	<i>Adult 31-64y</i>
<i>Sex predilection</i>	<i>None</i>	<i>3 : 1 female to male</i>
<i>Antecedent infection</i>	<i>Common 1-3 before</i>	<i>Unusual</i>
<i>Onset of bleeding</i>	<i>Abrupt</i>	<i>Insidious</i>
<i>Hemorrhagic bullae in mouth</i>	<i>Present in severe cases</i>	<i>Usually absent</i>
<i>Platelet count</i>	<i><20 000/μL</i>	<i>30.000-80 000</i>
<i>Eosinophilia and lymphocytosis</i>	<i>Common</i>	<i>Rare</i>
<i>Duration</i>	<i>2-6 wk; rarely longer</i>	<i>Months or years</i>
<i>Spontaneous remissions</i>	<i>Occur in 80% of cases</i>	<i>Uncommon</i>

Sumber: (Carverly, 2019)

2. SECONDARY IMMUNE THROMBOSITOPENIC /ITP SEKUNDER

Secondary Immune Thrombositopenic atau ITP Sekunder adalah ITP yang disebabkan oleh penyakit lain, oleh obat-obatan atau bahan kimia lainnya. Beberapa penyakit yang dapat menyebabkan ITP : (Cines D, et al, 2009) (Farid, 2012)(Cines, Liebman and Stasi, 2009)

Penyakit autoimun seperti *Lupus Erythematosus Systemic* (LES) *Antiphospholipid Syndrome* (APS), penyakit tiroid, dan sindrom Evans), Penyakit Limfoproliferatif (misalnya, Leukemia Limfositik Kronis atau Leukemia Limfosit T, *Large granular lymphocytic* ,

Penyakit infeksi misalnya dengan *Helicobacter pylori*, *Human Immunodeficiency Virus* (HIV), atau Hepatitis Virus C (HCV).

Pada anak-anak setelah vaksinasi campak, gondong, dan rubella atau infeksi virus alami, termasuk virus *Epstein-Barr*, *Cytomegalovirus*, dan virus *Varicella Zoster*.

1) *Lupus Erythematosus Systemic*

Sekitar 20–25% pasien dengan LES mengalami trombositopenia sedang-berat, dapat segera ditangani dengan terapi sistem imun dan mengobati penyakit dasar. Antibodi antinuklear umumnya ditemukan pada pasien ITP primer, tetapi hanya sedikit yang berkembang menjadi LES. Patogenesis trombositopenia bersifat multifaktorial yaitu : (1) antibodi antiplatelet glikoprotein seperti yang ditemukan di ITP primer; (2) kompleks imun dengan komposisi beragam; (3) *Antibody antiphospholipid* (APLA); (4) vasculitis; (5) mikroangiopati trombotik; (6) hemofagositosis; (7) autoantibodi pada reseptor c-Mpl43 dan MK; dan (8) perubahan stroma sumsum tulang. Oleh karena itu, penilaian klinis dan laboratorium menyeluruh diperlukan sebelum diagnosis ITP sekunder. (Cines D, 2009)

2) *Antiphospholipid Syndrom*

Antibody Antiphospholipid Antigen (APLA) ditemukan pada 20 - 70% pasien dengan ITP primer. Kehadiran APLA tidak mempengaruhi

efektivitas terapi, dalam hal menginduksi respon trombosit. Beberapa penelitian menunjukkan pasien berisiko mengalami trombosis, diagnosis diperumit oleh fakta bahwa sekitar 25% pasien dengan APS mengalami perkembangan trombositopenia ringan sampai sedang. Trombositopenia berat pada APS berkorelasi lebih erat dengan keberadaan antibodi anti-HPA dibandingkan dengan APLA atau manifestasi klinis. (Cines D, 2009)

3) Penyakit Tiroid

Trombositopenia ringan-sedang ditemukan umumnya pada pasien dengan hipertiroidisme. Kelangsungan hidup trombosit berkurang, tetapi kembali normal dengan pemulihan keadaan euthyroid. Demikian pula, trombositopenia ringan yang responsive terhadap terapi hormon juga terjadi pada beberapa pasien dengan hipotiroidisme, penyebabnya kemungkinan karena gangguan produksi trombosit. (Cines D, 2009)

Pasien dengan penyakit tiroid autoimun mengalami ITP yang membutuhkan terapi penanganan hormonalnya. Antibodi antitiroid umumnya ditemukan pada ITP primer dewasa dan anak-anak sehingga beberapa klinisi merekomendasikan pengujian fungsi tiroid pada pasien yang tidak responsif dan sebelum splenektomi. (Cines D, 2009)

4) Sindrom Evans

Pasien dengan Sindrom Evans mengalami anemia hemolitik autoimun, ITP, dan kadang-kadang dengan neutropenia autoimun. Hemolisis dapat mendahului atau mengikuti timbulnya trombositopenia dan biasanya refrakter. Neutropenia sering sinkron dengan manifestasinya. Lebih dari 50% anak-anak dan orang dewasa dengan Sindrom Evans memiliki presentasi klinis dan patologis yang tumpang tindih dengan *Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome (ALPS)*. (Cines D, 2009) *Immune Thrombocytopenic* berkembang pada sekitar 20% dan merespon relatif buruk terhadap terapi ITP. *Immune Thrombocytopenic* dengan Sindrom Evans juga terjadi pada sekitar 10% - 15% pasien dengan *common variable immune deficiency (CVID)* dan hipogamaglobulinemia. Timbulnya ITP biasanya terjadi pada dekade ketiga, meskipun serangan dari masa kanak-kanak hingga umur lanjut telah dilaporkan dan biasanya mendahului diagnosis CVID beberapa tahun. (Cines D, 2009)

5) Diabetes Melitus tipe 2

Diabetes pada dasarnya dapat disebut sebagai gangguan utama dalam metabolisme tubuh sehingga mengakibatkan rasa haus yang tak terpadamkan dan produksi urin karenanya. Pada penelitian ini 2 pasien ITP sekunder dengan penyakit dasar Diabetes Melitus tipe 2. Trombositopenia pada pasien diabetes dihubungkan dengan Resistensi

Insulin. Gejala ITP pada diabetes bervariasi tergantung pada seberapa konsentrasi glukosa. Beberapa orang, terutama mereka yang menderita pradiabetes atau diabetes tipe 2, mungkin tidak mengalami gejala pada awalnya. Resistensi insulin, adalah keadaan metabolik di mana respons jaringan yang diukur terhadap insulin kurang dari yang diharapkan untuk insulin yang tampaknya tersedia. Endotel pembuluh darah yang sehat dan utuh merupakan pusat dari fungsi normal kontraktilitas otot polos serta interaksi normalnya dengan trombosit. Hiperglikemia berperan pada defisiensi mikrovaskuler fungsional dan organik dan hiperaktivitas trombosit pada individu dengan diabetes. (Aaron, et al, 2001)

Resistensi Insulin dengan kelainan pada faktor-faktor yang terlibat dalam koagulasi, termasuk agregasi platelet, adhesi platelet, dan konsentrasi tromboksan, faktor von Willebrand, faktor VIII, aktivator plasminogen jaringan (TPA), dan fibrinogen. Ini menurunkan aktivitas fibrinolitik karena peningkatan konsentrasi PAI-1. Konsentrasi insulin plasma, proinsulin, sitokin, dan glukosa serta konsentrasi lipoprotein yang dimodifikasi semuanya mempengaruhi pelepasan PAI-1. Peningkatan aktivitas platelet dan peningkatan kecenderungan pembentukan trombus terjadi pada aterosklerosis, penyakit jantung, hipertensi, dan diabetes. Konsep yang berkembang adalah bahwa peningkatan aktivitas platelet tidak hanya berasal dari aktivitas prokoagulan tetapi dari hiperfungsi platelet yang tidak terkendali akibat

hilangnya aksi penahanan mekanisme antiagregatoris. Tampaknya inti dari hilangnya penahanan trombosit dan interaksinya dengan endotel pembuluh darah adalah resistensi terhadap aksi penghambatan insulin ditambah dengan produksi endotel yang rusak dari antiagregant NO dan PGI₂. (Aaron, et al, 2001)

6) *Lymphoproliferative Disorders*

Terjadi peningkatan kejadian ITP pada pasien dengan *chronic lymphocytic leukemia* (CLL), CD8 T-limfosit, *Large granular lymphocytic* (LGL), dan penyakit Hodgkin. Trombositopenia berat, terjadi pada sekitar 1% pasien dengan LGL, telah dikaitkan dengan penekanan klon megakaryopoiesis. (Cines D, 2009)

7) *Human Immunodeficiency Virus*

Hubungan antara ITP dan *acquired immunodeficiency syndrome* (AIDS) sebagai manifestasi klinik infeksi HIV, telah diketahui sejak awal hingga pertengahan 1980-an. Trombositopenia disebabkan oleh komponen imun yang serupa dalam presentasi dan respons terhadap ITP primer.

Pada tahap awal penyakit terjadi hematopoiesis yang tidak efektif. Ketika penyakit menjadi makin berat, terjadi penurunan produksi trombosit pada megakaryosit, sebagai akibat infeksi atau infiltrasi sumsum tulang. *Human Immunodeficiency Virus* mengikat reseptor dan

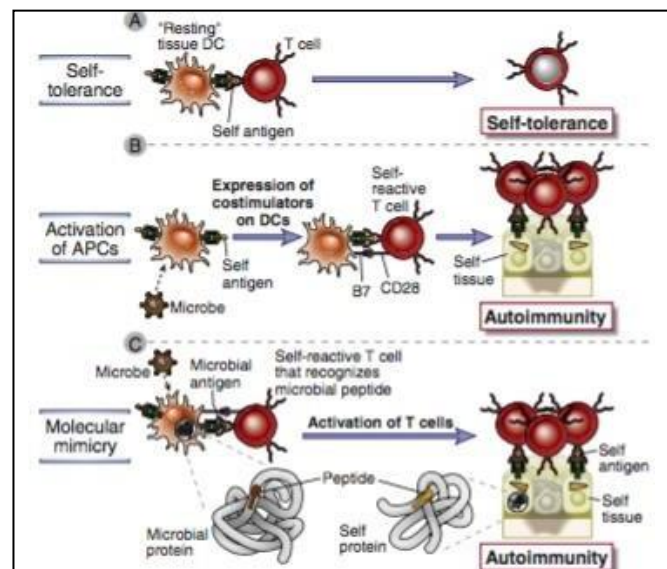
koreseptor CD4 yang diekspresikan pada megakaryosit, diinternalisasi, dan bereplikasi di dalam sel yang terinfeksi, mengarah ke displasia, blebbing membran permukaan, dan vakuolisasi sitoplasma perifer. Komponen imunitas dimediasi melalui mimikri molekuler yang melibatkan antibodi anti-HIV yang bereaksi silang dengan glikoprotein membran trombosit, kompleks imun, dan antibodi anti-GPIIIa yang menginduksi lisis trombosit, melalui jalur yang dimediasi peroksidase. (Cines D, 2009)

8) Hepatitis Virus

Di beberapa bagian dunia, ITP telah terdeteksi pada hingga 30% pasien infeksi Hepatitis Virus C (HVC) atau Hepatitis Virus B (HVB). Mekanisme yang menyebabkan gangguan imunitas terjadi oleh Antibodi anti-virus hepatitis pada membran trombosit, kompleks imun anti-virus yang bersirkulasi, antibodi yang bereaksi silang, dan infeksi langsung megakaryosit dengan ekspresi RNA virus pada trombosit. Produksi sumsum tulang ditekan oleh virus hepatitis atau oleh interferon pada pengobatan antivirus. Pasien biasanya mengalami perdarahan yang signifikan dengan adanya trombositopenia sedang. (Cines D, 2009)

Mekanisme autoimun dapat dijelaskan sebagai berikut, normalnya perlawanan sel T *self-ractive* matur dengan suatu antigen diri dipresentasikan oleh suatu *costimulator-deficient resting tissue APC*

menghasilkan toleransi perifer oleh anergi (Gambar 12.a). Mikroba yang mengaktifkan APC untuk mengekspresikan costimulator, bila APC mempresentasikan antigen diri, sel T *self-reaktive* diaktifkan sebaliknya yang menyebabkan toleransi (Gambar 12.b). Banyak antigen mikroba dapat bereaksi silang dgn antigen diri (mimikri molekul). Kemudian respon imun, diinisiasi oleh mikroba yang mengaktifkan sel T-spesifik terhadap *self antigen* (Gambar 12.c). (Abbas A.K, 2015)



Gambar 12. Mekanisme autoimun mimikri
(Abbas A.K, et al, 2015)

8) *Helicobacter pylori*

Keberhasilan pemberantasan infeksi *Helicobacter pylori* di antara pasien yang mengalami ITP khas bervariasi dari 1 - 5% di Amerika Serikat, lebih dari 60% di Italia dan Jepang, dengan sekitar 50% dilaporkan dari negara lain. Beberapa hipotesis yang menghubungkan

H pylori dengan ITP yaitu (1) perbedaan regional dalam ekspresi gen terkait CagA, antibodi yang bereaksi silang dengan trombosit, melalui proses mimikri molekuler; (2) reaktivitas silang antara protein *H pylori* cytotoxin-A dan antigen trombosit-135; (3) adsorpsi antigen Lewis pada trombosit oleh antibodi anti-Lewis yang diinduksi *H pylori* pada pasien dengan latar belakang genetik yang sesuai; (4) aktivasi dan pembersihan trombosit melalui interaksi dengan faktor *H pylori*-yang terikat vWF antigen platelet GPIb. Titer autoantibodi turun 12 hingga 24 minggu setelah eradikasi berhasil, sedangkan respons sering terjadi dalam 1 - 2 minggu, menunjukkan mekanisme tambahan operatif. (Abbas A.K, et al, 2015) (Cines D, 2009)

9) Vaksinasi dan Infeksi Lainnya

Trombositopenia transien tetapi berat terjadi dengan angka kejadian 1 : 25.000-40.000 vaksinasi campak, gondong, dan rubella, dan lebih jarang setelah vaksinasi terhadap pneumokokus, *Haemophilus influenzae B*, *varicella zoster virus* (VZV), dan hepatitis B. Lebih dari 80% pasien pulih dalam 2 bulan, biasanya dalam 2 sampai 3 minggu, dengan kurang dari 10% berkembang menjadi ITP primer kronis responsif terapi. (Cines D, 2009)

10) *Post-transfusion purpura*

Post-transfusion purpura (PTP) adalah penyebab ITP yang jarang tetapi dramatis. Pasien tipikal adalah wanita multipara atau multitransfusi yang mengalami perdarahan dan tiba-tiba mengalami trombositopenia berat rata-rata 7 hari setelah transfusi produk darah yang mengandung antigen trombosit. *Post-transfusion purpura* terjadi terutama di antara sekitar 1% Kaukasia yang homozigot untuk alel HPA-1b pada GP-IIIa, meskipun kasus lain telah dilaporkan. Pasien berisiko tinggi mengalami pendarahan dan perjalanan klinis seringkali berlarut-larut tanpa terapi. *Intravenous Immune globulin* (IVIg) adalah standar perawatan. (Cines D, 2009)

11) *Drug-Induced Thrombocytopenia*

Kasus pertama *Drug-Induced Thrombocytopenia* (DITP) diidentifikasi pada penggunaan obat kina. Trombositopenia terjadi akibat toksisitas sumsum tulang atau penghancuran trombosit yang dimediasi oleh imun. Beberapa ratus agen terapeutik telah diketahui dapat memicu terjadinya trombositopenia, diagnosis DITP umumnya didasarkan pada skenario klinis ini: (1) terapi dengan obat tertentu mendahului trombositopenia dengan rentang waktu yang cukup untuk membentuk antibodi; (2) tidak ada hubungan dengan obat lain; (3) tidak ada sebab lainnya; (4) pemulihan terjadi setelah penghentian obat; dan (5)

paparan ulang terhadap obat, menyebabkan trombositopenia berulang.
(Cines D, 2009)

Classification (drugs)	Mechanism	Incidence
Hapten-dependent antibody (penicillin, some cephalosporin antibiotics)	Hapten links covalently to membrane protein and induces drug-specific immune response	Very rare
Quinine-type drug (quinine, sulfonamide antibiotics, nonsteroidal anti-inflammatory drugs)	Drug induces antibody that binds to membrane protein in presence of soluble drug	26 cases per 1 million users of quinine per week, probably fewer cases with other drugs
Fiban-type drug (tirofiban, eptifibatide)	Drug reacts with glycoprotein α IIb β 3 to induce a conformational change recognized by antibody (not yet confirmed)	0.2%-0.5%
Drug-specific antibody (abciximab)	Antibody recognizes murine component of chimeric Fab fragment specific for platelet β 3	0.5%-1.0% after first exposure, 10%-14% after second exposure
Autoantibody (gold salts, procainamide)	Drug induces antibody that reacts with autologous platelets in absence of drug	1.0% with gold, very rare with procainamide and other drugs
Immune complex (heparins)	Drug binds to platelet factor 4, producing immune complex for which antibody is specific; immune complex activates platelets through Fc receptors	1%-3% among patients treated with unfractionated heparin for 7 days, rare with low-molecular-weight heparin

Table adapted from Aster and Bougie with permission from the Massachusetts Medical Society.¹⁵⁷

Gambar 13. Daftar klasifikasi obat yang dapat menyebabkan trombositopenia (Cines D, 2009)

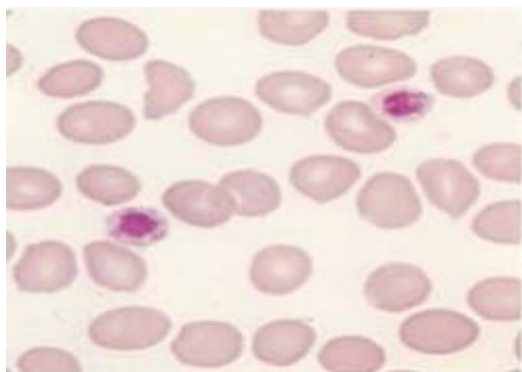
3. Pemeriksaan laboratorium pada ITP

1) Pemeriksaan laboratorium skrining ITP : (Hoffbrand, 2006) (Alvina 2011)

- Pemeriksaan darah rutin, *complete blood count* (CBC), menunjukkan jumlah trombosit kurang dari normal, lekosit dapat normal atau kurang. *Mean Corpuscular Volume* (MCV) dan *Mean Corpuscular Hemoglobine* (MCH) rendah sebagai

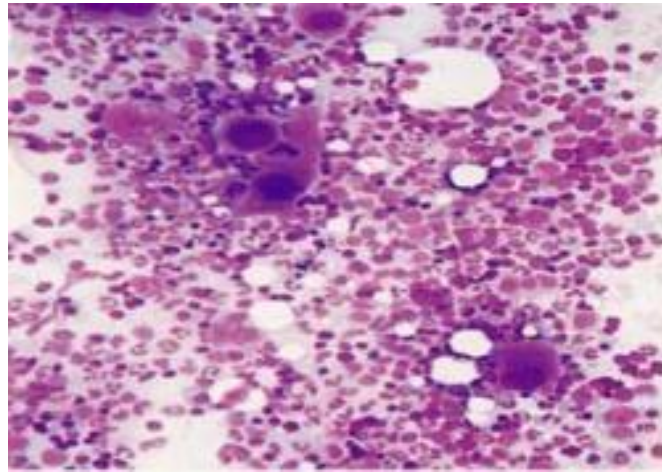
penanda anemia defisiensi besi akibat kehilangan darah dapat terjadi pada proses yang telah berlangsung kronik

- Pemeriksaan apusan darah tepi apusan darah tepi menunjukkan jumlah trombosit yang kurang dan berukuran normal, terkadang juga *giant* trombosit, sedangkan eritrosit dan leukosit morfologi normal



Gambar 14. Apusan darah tepi pada ITP
(Alvina 2011)

- Anemia dan defisiensi besi mungkin terjadi akibat kehilangan darah
- Aspirasi sumsum tulang biasanya normal atau menunjukkan peningkatan megakaryosit. Aspirasi sumsum tulang dilakukan pada pasien dengan respon terapi yang buruk. Aspirasi sumsum tulang dapat memberikan informasi penting pada pasien berumur di atas 60 tahun dengan gejala sistemik.
- Rincian morfologi trombosit juga dapat diperoleh dengan cara sitogenetik atau *flow cytometry*.



Gambar 15. Aspirasi Sumsum Tulang, peningkatan jumlah megakaryosit (Alvina 2011)

- *Direct Antiglobulin Test* (DAT) juga dapat digunakan untuk membantu diagnosis ITP, DAT positif pada 22% pasien, tetapi tidak ada hubungan signifikansi dengan klinis pasien.

2) Apabila perjalanan penyakit ITP telah mencapai tiga bulan, maka dikategorikan sebagai ITP persisten. Pemeriksaan laboratorium yang diperlukan antara lain : (Sari, 2018)

1. *Screening* penyakit autoimun : ANA (*Anti-nuclear Antibody*), anti ds-DNA (*double-stranded Deoxyribonucleic Acid*), *Rheumatoid arthritis*, komplemen C3 dan C4.
2. *Screening* tiroid : *Thyroid Stimulating Hormon* (TSH), *Free Thyroxin* (FT4), antibodi tiroid.
3. Konsentrasi imunoglobulin : Ig G, Ig A, dan Ig M.
4. Antibodi antifosfolipid.

5. *Polymerase Chain Reaction (PCR)* untuk deteksi virus seperti *Eipstein-Barr virus (EBV)*, *Cytomegalovirus*, *Parvovirus*, *HIV*, *Hepatitis C*.

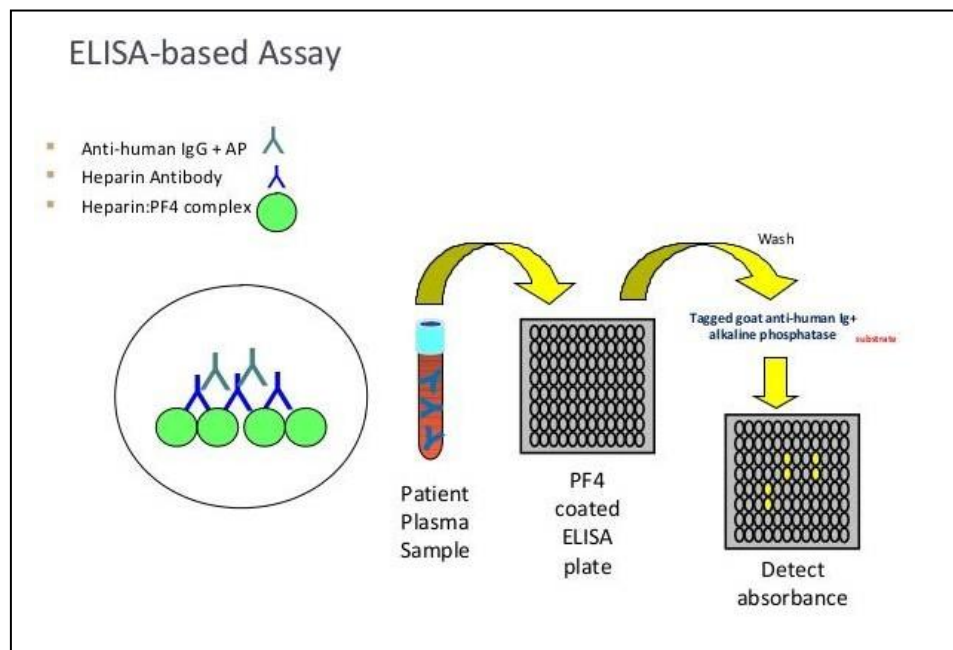
3) Tes antibodi anti-antiplatelet

Tes antibodi antiplatelet dapat membantu dalam menegakkan diagnosis ITP, walaupun hasilnya mungkin negatif tidak bisa menyingkirkan diagnosis ITP. Tes untuk deteksi antibodi antiplatelet telah dikembangkan sejak 1950. (Alvina, 2011)

Pada awalnya metode tidak langsung dikembangkan untuk menilai serum antiplatelet antibodi. Serum pasien dicampur dengan trombosit normal, dan hasil akhirnya dalam bentuk agregasi atau lisis trombosit. Metode ini sekarang sudah tidak digunakan lagi karena memiliki sensitivitas dan spesifisitas rendah, karena dapat diintervensi oleh zat/protein lain dalam serum pasien. Antibodi kompleks dan komplemen, yang dapat mengaktivasi trombosit, sehingga hasil yang *false positif*. (Alvina 2011)

Pada fase berikutnya dikembangkan tes untuk mendeteksi *platelet associated IgG (Ig-G anti-HPA)* dengan metode *Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*. Tes ini mendeteksi Ig-G anti-HPA lebih sensitif mampu mendeteksi imunoglobulin terutama Ig-G yang terikat pada trombosit tetapi kurang spesifik, karena trombosit dari pasien dengan ITP serta nonimun dapat meningkatkan konsentrasi

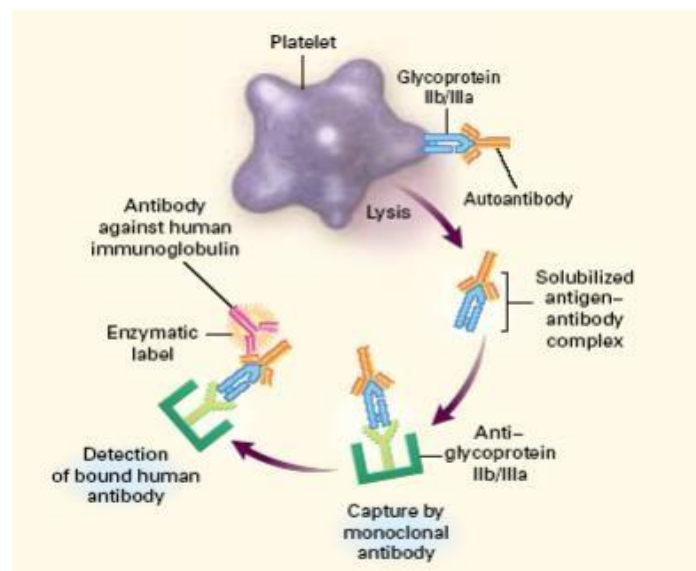
Ig-G anti-HPA. (Alvina 2011) Meskipun nilai spesivitas tidak tinggi tetapi metode ini dapat diaplikasikan dalam pelayanan pasien, karena lebih mudah dan lebih sederhana pelaksanaannya.



Gambar 16. Deteksi Ig-G anti-HPA metode ELISA (KIT Cusabio)

Pada fase ketiga antibodi trombosit atau *specific antibodies against platelet glycoproteins* dideteksi dengan menggunakan *Modified Antigen Capture Enzyme Linked Immunosorbent Assay (MACE)*, diilustrasikan pada (Gambar 16). Pada metode *Mouse Antiglycoprotein Antibodies (MAIPA)*, anti-GP Antibodi mengikat GP trombosit. Awalnya terbentuk kompleks anti-GPAb-GP-*mouse*, yang selanjutnya pada penambahan fase padat yang mengandung *auto-antibody-platelet* akan membentuk kompleks *anti-GPAb-GPautoAb-mouse*. Kompleks *anti-GPAb-GP-autoAb-mouse* ini dimasukkan ke dalam sumur yang dilapisi

antibodi-antimouse kemudian ditambahkan *enzyme-labeled anti-human Ig*, yang akan mengikat kompleks *anti-GPAb-GPautoAb-mouse*. (Alvina 2011)



Gambar 17. Deteksi *antiplatelet antibody* dengan *the monoclonal antigen capture assay* (Alvina 2011)

Metode MAIPA memiliki keuntungan dapat menyiapkan antigen trombosit (GP), dengan membentuk sensitasi antibodi sebelum ditambah pelarut. (Alvina 2011)

Tes penangkapan antigen lainnya adalah dengan metode *microtiter plate assay* dan *immunobead assay*. Pada metode *microtiter plate assay*, antigen-GP trombosit ditambahkan pada sumur yang dilapisi *antiplatelet monoclonal antibody*, kemudian ditambahkan trombosit yang mengandung antibodi pasien, diikuti dengan penambahan *enzyme-labeled antihuman antibody*. Pada *immunobead assay*, ditambahkan reagen *antiplatelet monoclonal antibody* yang

melekat pada manik-manik, *glycoprotein complexed with autoantibody-bearing platelets*, dan *enzyme-labeled antihuman antibody*

4) Interleukin-1 (IL-1)

Interleukin-1, adalah sitokin inflamasi, yang memiliki beragam fungsi fisiologis dan patologis dan memainkan peran penting dalam bidang kesehatan. Dalam dekade ini, anggota famili interleukin-1 telah terbukti berperan penting dalam sistem kekebalan bawaan dengan spektrum luas penyakit selain penyakit radang. (Cohen, et al, 2010)(Kaneko, 2019)

Dari sudut pandang historis, IL-1 memiliki berbagai fungsi biologis, yang bertindak sebagai pirogen leukosit, mediator demam dan mediator endogen leukosit, dan penginduksi beberapa komponen respon fase akut dan *lymphocyte-activating factor* (LAF) (LAF). *Lymphocyte-activating factor* kemudian terbukti menjadi mediator imun yang diturunkan, makrofag yang bekerja pada limfosit T dan B. Interleukin-1 mampu mendorong rekrutmen *tumor-associated macrophages* (TAMs) dan *myeloid-derived suppressor cells* (MDSCs), pada perkembangan tumor pada kanker payudara. (Kaneko, 2019)

Interleukin-1 diproduksi oleh makrofag jaringan, monosit, fibroblas, dan sel dendritik, namun juga dikaitkan dengan limfosit B, sel NK, mikroglia, dan sel epitel. Interleukin-1 membentuk bagian penting dari respon inflamasi tubuh terhadap infeksi. Sitokin ini meningkatkan

ekspresi faktor adhesi pada sel endotel sehingga memungkinkan transmigrasi (juga disebut diapedesis) sel autoimunokompeten, seperti fagosit, limfosit dan lainnya, ke tempat infeksi. Interleukin-1 juga mempengaruhi aktivitas hipotalamus, pusat termoregulator, yang menyebabkan kenaikan suhu tubuh (demam). Itulah sebabnya IL-1 disebut pirogen endogen. Selain demam, IL-1 juga menyebabkan hipergesgia (peningkatan sensitivitas nyeri), vasodilatasi dan hipotensi. (Contassot, Beer and French, 2012)

Tabel.3 Sistem Nomenklatur Interleukin-1 (IL-1)

Name	Family Name	Receptor	Co-receptor	Property	Chromosomal Location
IL-1 α	IL-1F1	IL-1R1	IL-1RAcP	Proinflammatory	2q14
IL-1 β	IL-1F2	IL-1R1	IL-1RAcP	Proinflammatory	2q14
IL-1Ra	IL-1F3	IL-1R1	NA	Antagonis, IL-1 α . IL-1 β	2q14.2
IL-18	IL-1F4	IL-18R α	IL-18R β	Proinflammatory	11q22.2-q22.3
IL-36Ra	IL-1F5	IL-Rrp2	NA	Antagonis, IL-36 α . IL-36 β , IL-36 γ	2q14
IL-36 α	IL-1F6	IL-Rrp2	IL-1RAcP	Proinflammatory	2q12-q14.1
IL-37	IL-1F7	Unkonwn	Unknown	Anty-inflammatory	2q12-q14.1
IL-36 β	IL-1F8	IL-Rrp2	IL-1RAcP	Proinflammatory	2q14
IL-36 γ	IL-1F9	IL-Rrp2	IL-1RAcP	Proinflammatory	2q12-q21
IL-38	IL-1F10	IL-Rrp2		Anty-inflammatory	2q13
IL-33	IL-1F11	ST2	IL-1RAcP	Th2 responses, Proinflammatory	9p24.1

(Dinarelo CA,2011. The Interleukin-1 Family : In The Pathogenesis and treatment Inflammatory Diseases. Blood 117. (14) 3710-3).(Cohen, et al, 2010)

Saat ini, teknologi *human sequence algorithm* menyatakan bahwa famili IL-1 terdiri dari total 11 anggota dengan efek biologis yang sama atau berbeda. IL-1 α , IL-1 β , IL-1Ra, IL-18, IL-33, IL-36 α , IL-36 β , IL-36 γ , IL-36Ra IL-37, dan IL-38 telah diidentifikasi dan dikarakterisasi

(Tabel 3). Di antara Famili IL-1 terdapat IL-1 α , IL-1 β , IL-18, IL-33, dan IL-36 adalah reseptor-agonis, dan IL-1Ra, IL-36Ra, dan IL-38 adalah reseptor-antagonis, IL-1Ra mengatur aktivitas proinflamasi IL-1 α dan IL-1 β dengan cara bersaing dengan mereka untuk mengikat situs reseptor. Interleukin-37 adalah satu-satunya sitokin anti-inflamasi. Meskipun fungsi setiap anggota famili IL-1 sekarang sedang diselidiki, IL-1 adalah yang paling berkarakter di antara anggota ini.(Cohen, et al, 2010)(Kaneko, 2019) Ada dua bentuk individu IL-1, IL-1 α dan IL-1 β , diisolasi dari dua cDNA yang berbeda, tetapi tidak dapat dibedakan dalam hal fungsi biologis mereka. Meskipun homologi antara IL-1 α dan IL-1 β tidak tinggi (27%) dalam hal urutan asam amino, IL-1 α dan IL-1 β secara struktural serupa dan menunjukkan fungsi yang sama dengan berbagi reseptor umum, tipe IL-1-reseptor-1 (IL-1R1), dan keduanya memiliki β -barrel pusat yang sama bersama dengan loop yang berdampingan. Perbedaan antara IL-1 α dan IL-1 β adalah perpanjangan N-terminal dari 14 residu di luar N-terminus IL-1 α dan IL-1 β . Berat molekul masing-masing prekursor adalah sekitar 31 kDa, dan IL-1 α dan IL-1 β diproses oleh protease spesifik hingga bentuk matang. Domain N-terminal IL-1 α berisi urutan lokalisasi nuklir (NLS) dan menunjukkan aktivitas transkripsi. (Kaneko, 2019)

Interleukin-1 α diproduksi sebagai protein prekursor asam 271-asam amino (AA). IL-1 β diproduksi sebagai protein prekursor 269-AA. Interleukin-1 α dan IL-1 β diekspresikan dalam berbagai jaringan dan

berbagai sel, terutama dalam makrofag dalam organ limfoid termasuk timus, limpa, kelenjar getah bening, patch Peyer, dan sumsum tulang. Pada organ non-limfoid, Interleukin-1 α dan IL-1 β diekspresikan dalam makrofag jaringan di paru-paru, saluran pencernaan, dan hati. Interleukin-1 α dan IL-1 β juga diekspresikan dalam jaringan endometrium subepitel seluler uterus, di glomeruli, di area kortikal luar ginjal, dan dalam berbagai jenis sel spesifik, termasuk neutrofil, keratinosit, sel epitel dan endotel, limfosit, sel otot polos, dan fibroblast. (Kaneko, 2019)

Pada penyakit autoinflamasi, ditandai dengan peningkatan sekresi IL-1 β , termasuk penyakit autoinflamasi seperti *hyperimmunoglobulinemia D and periodic fever syndrome* (HIDS)/*mevalonate kinase deficiency* (MKD); *pyogenic arthritis, pyoderma gangrenosum*, dan *acne syndrome*. Pada *deficiency of the IL-1-receptor antagonist* (DIRA), kelebihan IL-1 β menginduksi sitokin dan kemokin proinflamasi lainnya. Interleukin-1 β dianggap memainkan peran penting dalam invasif kanker, perkembangan, dan metastasis melalui peradangan di lingkungan mikro tumor. (Kaneko, 2019)

Derivat IL-1 terdiri dari tiga gen terkait, IL-1 α , IL-1 β , dan IL-1Ra, dan masing-masing memainkan peran fungsional yang berbeda dalam penyakit autoimun. IL-1 terlibat dalam stimulasi megakaryocytopoiesis, regulasi produksi trombosit, dan generasi autoantibodi. IL-1B-31 dan

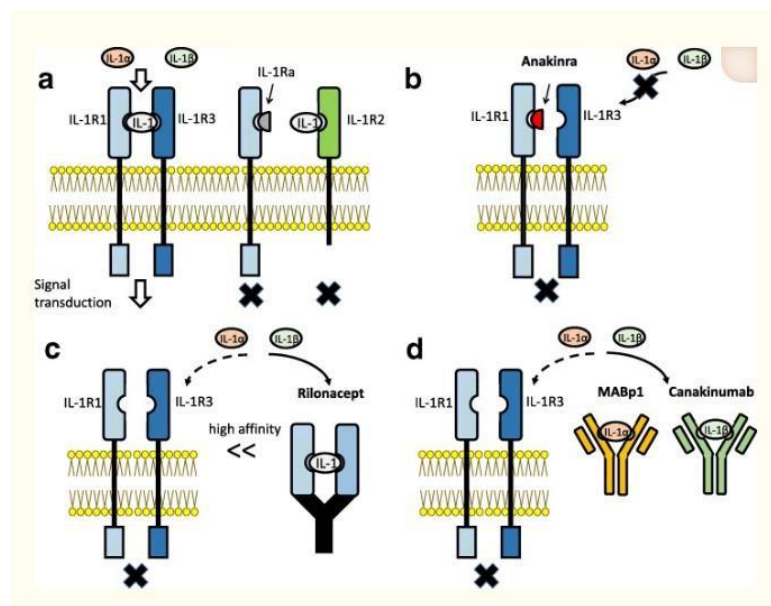
IL-1Ra menunjukkan hubungan yang signifikan dengan ITP dengan berat (Yadav DK. 2017)

Beberapa inhibitor signaling IL-1 telah disepakati secara klinis pada terapi anti inflamasi, Anankira, Riloncept, Canakinumab. Anakinra adalah obat biologis pertama dari antagonis IL-1R1 selektif yang menerima lisensi dari Badan Pengawas Obat dan Makanan AS (FDA). Karena anakinra adalah antagonis reseptor IL-1, dapat mencegah aktivitas IL-1 α dan IL-1 β dengan secara kompetitif memblokir ikatannya dengan IL-1R1 dan IL-1R2. Anakinra telah diterapkan untuk berbagai penyakit termasuk penyakit autoinflamatori, penyakit radang non-kanker, dan keganasan. Sampai saat ini, tidak ada efek samping yang serius dari anakinra telah dilaporkan. (Kaneko, 2019)

Riloncept (ril on 'a sept), adalah protein fusi rekombinan yang terdiri dari bagian ekstraseluler manumur IL-1R1 dan IL-1R3 yang menyatu dengan bagian Fc dari IgG1 manumur. Riloncept berikatan dengan IL-1 α dan IL-1 β dengan afinitas tinggi dan menghambat aktivitas keduanya dengan efek penghambatan jangka panjang. Riloncept pertama kali disetujui oleh FDA untuk pengobatan CAPS pada tahun 2008. Tidak ada efek buruk yang diketahui dari riloncept karena penghambatan pensinyalan IL-1. Obat-obatan ini dapat memodulasi respons imun. (Kaneko, 2019)

Canakinumab, antibodi IgG1 monoklonal manufaktur spesifik yang menargetkan IL-1 β . Canakinumab tidak bereaksi dengan IL-1 α atau IL-1R1. Oleh karena itu, canakinumab adalah inhibitor IL-1 β yang lebih spesifik, diharapkan tidak memiliki efek pada pertahanan inang yang bergantung pada IL-1 α . Uji klinis awal menetapkan pemberian canakinumab setiap 2 minggu sebagai aman dan efektif terhadap beberapa penyakit radang. (Kaneko, 2019)

Penanganan terapi anti IL-1 memberikan efek yang signifikan dengan efek samping yang minimal, tetapi sampai saat ini belum diaplikasikan pada penanganan ITP.

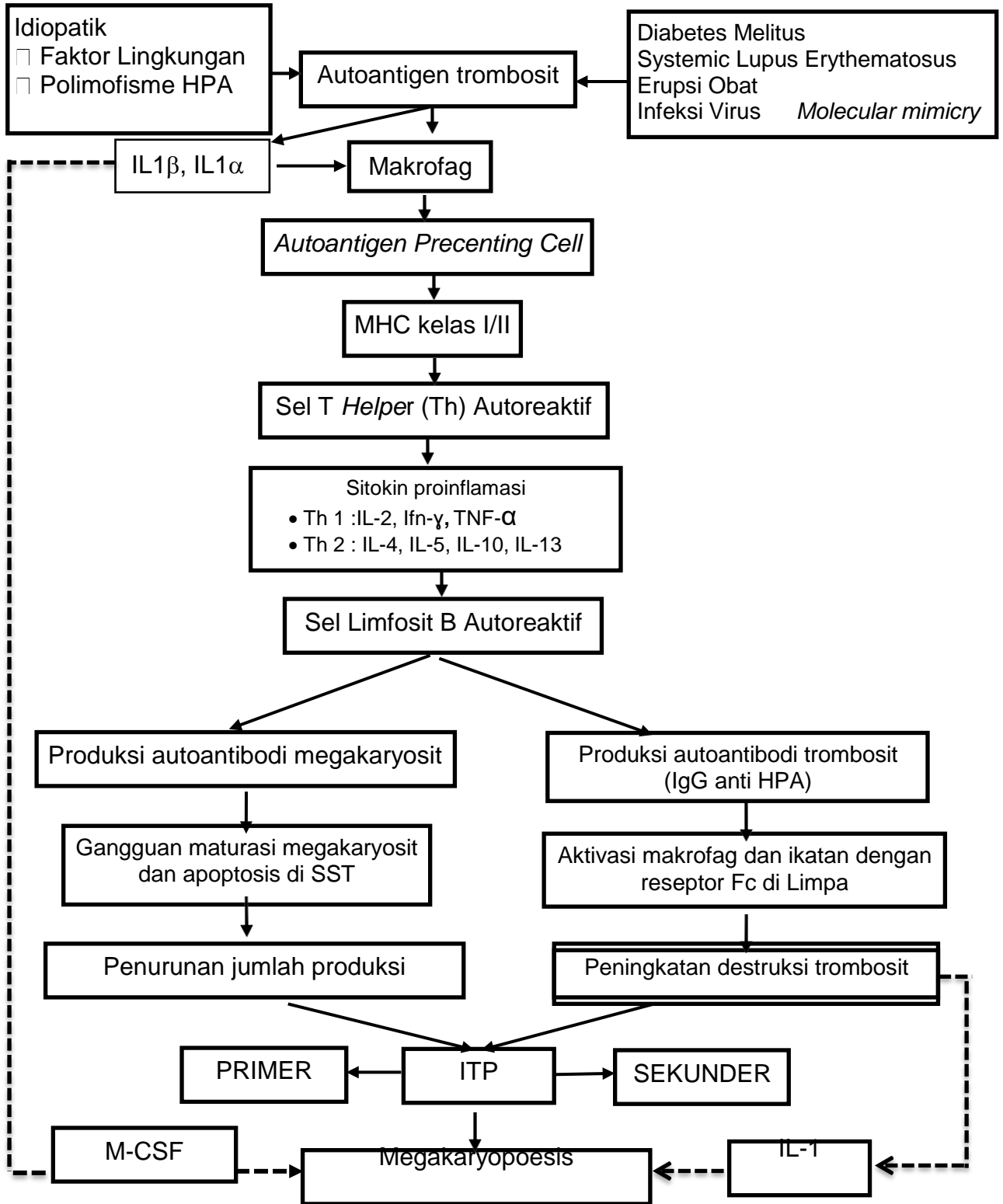


Interleukin-1 receptors and inhibitors of IL-1 signaling. **a** IL-1R1 interacts with both IL-1 α and IL-1 β and promotes signal transduction, together with its co-receptor IL-1R3 (IL-1RAcP). IL-1Ra is a protein that binds to IL-1R1 but not IL-1R3, and it is as an inhibitor of IL-1 signaling. IL-1R2 is a decoy receptor because it lacks a cytoplasmic segment. **b** Anakinra is a recombinant form of intrinsic human IL-1Ra. It works as an antagonist of IL-1R1, and it is able to inhibit both IL-1 α and IL-1 β . **c** Rilonacept is a recombinant fusion protein including the extracellular protein of human IL-1R1 and IL-1R3 fused with the Fc portion of human IgG1. It binds to both IL-1 α and IL-1 β with high affinity and has a long-term inhibitory effect. **d** Canakinumab and MABp1 are monoclonal antibodies against IL-1 β and IL-1 α , respectively. They bind to and neutralize their targets specifically

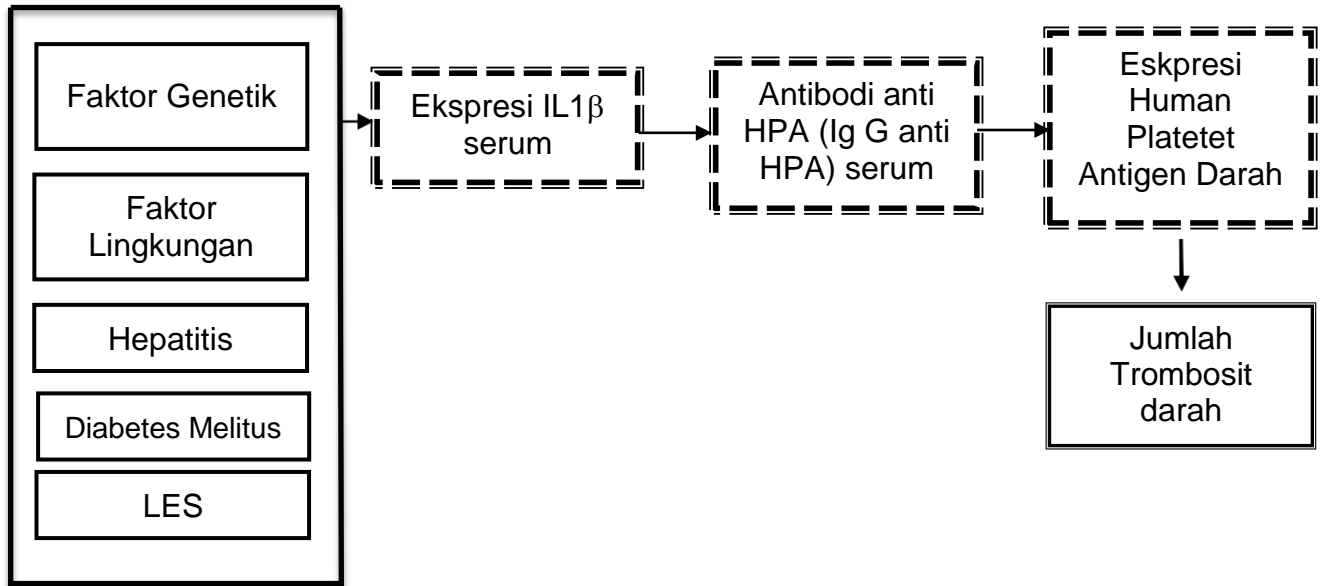
Gambar 18. Mekanisme kerja inhibitor IL-1 (Kaneko, 2019)

KERANGKA PENELITIAN

A. KERANGKA TEORI



B. KERANGKA KONSEP



Keterangan:



= Variabel bebas tidak diteliti



= Variabel antara yang di teliti



= Variabel tergantung yang diteliti