

KARYA AKHIR

**ANALISIS KADAR HEPsidin SERUM PADA ANAK
THALASSEMIA BETA MAYOR DAN THALASSEMIA BETA HBE**

***ANALYSIS OF SERUM HEPcidin LEVELS IN
CHILDREN WITH THALASSEMIA BETA MAYOR
AND THALASSEMIA BETA HBE***

DINA FADHILAH MONIKA

C105191003



PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS -1 (Sp.1)

PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN ANAK

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

**ANALISIS KADAR HEPSIDIN SERUM PADA ANAK
THALASSEMIA BETA MAYOR DAN THALASSEMIA BETA HBE**

Karya Akhir
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Spesialis Anak

Program Studi Ilmu Kesehatan Anak

Disusun dan diajukan oleh

DINA FADHILAH MONIKA

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp.1)
PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN ANAK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

LEMBAR PENGESAHAN TUGAS AKHIR

**ANALISIS KADAR HEPsidin SERUM PADA ANAK THALASSEMIA
BETA MAYOR DAN THALASSEMIA BETA HBE**

Disusun dan diajukan oleh:

DINA FADHILAH MONIKA

NIM: C105191003

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Program Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Kesehatan Anak
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 26 Agustus 2024
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

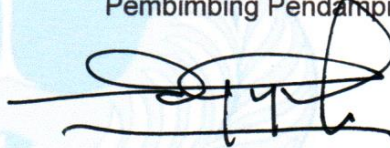
Menyetujui,

Pembimbing Utama,



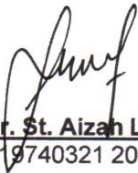
Dr. dr. Nadirah Rasyid Ridha, M.Kes, Sp.A(K)
NIP. 19730515 200112 2 004

Pembimbing Pendamping,



Dr. dr. Idham Jaya Ganda, Sp.A(K)
NIP. 19581005 198502 1 001

Ketua Program Studi,



Dr. dr. St. Aizan Lawang, M.Kes, Sp.A(K)
NIP. 19740321 200812 2 002

Dekan Fakultas/
Sekolah Pascasarjana,



Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, Sp.GK
NIP. 19680530 196603 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Dina Fadhillah Monika

Nomor Mahasiswa : C105191003

Program Studi : Ilmu Kesehatan Anak

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya akhir yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan karya akhir ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 26 Agustus 2024

Yang menyatakan,



Dina Fadhillah Monika

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Subhanahu wa Ta'ala yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan karya akhir ini.

Penulisan karya akhir ini merupakan salah satu persyaratan dalam rangka penyelesaian Program Pendidikan Dokter Spesialis di IPDSA (Institusi Pendidikan Dokter Spesialis Anak), pada Konsentrasi Pendidikan Dokter Spesialis Terpadu, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan karya akhir ini tidak akan terselesaikan dengan baik tanpa bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang tulus kepada **Dr. dr. Nadirah Rasyid Ridha, Sp.A(K), M.Kes** sebagai pembimbing materi yang dengan penuh perhatian dan kesabaran senantiasa membimbing dan memberikan dorongan kepada penulis sejak awal penelitian hingga penulisan karya akhir ini.

Ucapan terima kasih yang setulus-tulusnya penulis sampaikan kepada **Dr. dr. Idham Jaya Ganda, Sp.A(K)** sebagai pembimbing materi dan metodologi yang di tengah kesibukan beliau telah memberikan waktu dan pikiran untuk membantu penulis dalam menyelesaikan penulisan karya akhir ini.

Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada para penguji yang telah banyak memberikan masukan dan perbaikan untuk karya akhir ini, yaitu **dr. Hadia Angriani, Sp.A(K), MARS, dr. Rahmawaty, M.Kes, Sp.A(K), dan dr. Urfianty M.Kes, SP.A(K).**

Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada :

1. Rektor dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin atas kesediaannya menerima penulis sebagai peserta pendidikan pada Konsentrasi Pendidikan Dokter Spesialis Terpadu, Program Studi Ilmu Kesehatan Anak, Universitas Hasanuddin.

2. Koordinator Program Pendidikan Dokter Spesialis, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang senantiasa memantau dan membantu kelancaran pendidikan penulis.
3. Ketua Departemen, Ketua dan Sekretaris Program Studi Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin beserta seluruh staf pengajar (*supervisor*) Departemen Ilmu Kesehatan Anak atas bimbingan, arahan, dan nasehat yang tulus selama penulis menjalani pendidikan.
4. Direktur RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo, Direktur RSP Universitas Hasanuddin, dan Direktur RS Jejaring atas ijin dan kerjasamanya untuk memberikan kesempatan kepada penulis untuk menjalani pendidikan di rumah sakit tersebut.
5. Semua staf administrasi di Departemen Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan semua paramedis di RSUP dr. Wahidin dan Rumah Sakit jejaring yang lain atas bantuan dan kerjasamanya selama penulis menjalani pendidikan.
6. Orang tua saya ibunda **Hj. Suryana Hamid, S.H., M.H.**, ayahanda **Prof. Dr. H. Aminuddin Salle, S.H., M.H.**, serta ibunda mertua saya **Hj. Andi Silvi Pawellangi** dan ayahanda mertua saya **Ir. Haji La Tinro La Tunrung** yang senantiasa mendukung dalam doa dan dorongan yang sangat berarti sehingga penulis mampu menjalani proses pendidikan.
7. Suami tercinta saya **Andi Sanggalangi La Tinro, S.T.** serta anak-anak kesayangan saya **Andi La Tunrung Maninrori** dan **Andi Siti Khadijah Marjuba** yang dengan penuh kesabaran kebersamai, mendoakan dan menjadi sumber inspirasi dan semangat hidup saya selama menjalani proses pendidikan.
8. Saudara-saudara saya **Dr. Buyung Romadhoni, S.E, M.Si, Dhini Fakhiana, S.T., dan Dr. Deasy Mauliana, S.H., M.H.** atas dukungan, doa dan segala bantuan yang diberikan kepada penulis selama masa pendidikan.

9. Semua teman sejawat peserta Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Kesehatan Anak terutama *Angkatan Juli 2019* : **dr. Irwandi Zakaria Sp.A, dr. Annisa Trie Anna, Sp.A dr. Arwini Avisia Abdullah,Sp.A, dr. Kartika Setiaawaty Sp.A** atas bantuan dan kerjasamanya yang menyenangkan, berbagai suka dan duka selama penulis menjalani pendidikan.

10. Semua pihak yang tidak sempat penulis sebutkan satu persatu yang turut membantu menyelesaikan karya akhir ini.

Dan akhirnya penulis berharap semoga tulisan ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan Ilmu Kesehatan Anak di masa mendatang.

Tak lupa penulis mohon maaf untuk hal-hal yang tidak berkenan dalam penulisan ini karena penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan hasil penelitian ini masih jauh dari kesempurnaan.

Makassar, 26 Agustus 2024

Dina Fadhilah Monika

ABSTRAK

Latar Belakang. Thalassemia beta bergantung pada spektrum keparahan dengan fenotipe klinis, komplikasi, dan strategi pengobatan yang berbeda. Kadar hepsidin serum mungkin berguna dalam memantau pengelolaan eritropoiesis yang tidak efektif pada pasien dengan thalassemia beta dan komplikasi yang berhubungan dengan kelebihan zat besi.

Tujuan. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan kadar hepsidin pada anak thalassemia beta mayor dengan hepsidin anak dengan thalassemia beta HbE.

Metode. Penelitian ini adalah studi diagnostik dengan desain *cross-sectional* yang melibatkan anak-anak dengan thalassemia beta mayor dan thalassemia beta HbE berusia 1 bulan hingga 18 tahun, di 2 rumah sakit di Sulawesi Selatan, Indonesia dari Juli 2023 hingga Juni 2024. Sampel darah vena diambil dari masing-masing responden dan kadar hepsidin diukur menggunakan metode ELISA.

Hasil. Dari 31 sampel, 21 (67,8%) dengan thalassemia beta mayor dan 10 (32,2%) dengan thalassemia beta HbE. Kadar median hepsidin serum untuk thalassemia beta mayor adalah 469,71 ng/ml dengan rentang dari 21,52 hingga 3094,51 ng/ml, kadar median hepsidin serum untuk thalassemia HbE adalah 429,37 ng/ml dengan rentang dari 15,73 hingga 1981,31 ng/ml, dengan hasil nilai $p = 0,466$ ($p > 0,05$).

Kesimpulan. Tidak ada perbedaan yang signifikan antara kadar hepsidin serum pada anak dengan thalassemia beta mayor dengan anak thalassemia beta HbE.

Kata kunci: Thalassemia beta mayor, Thalassemia beta HbE, Hepsidin, Anak

ABSTRACT

Background. Beta thalassemic lies on a spectrum of severity with different clinical phenotypes, complications, and strategies for treatment. Serum hepcidin levels may be helpful in monitoring the management of ineffective erythropoiesis in patients with beta thalassemia and complications related to iron overload.

Purpose. This study is aimed comparing hepcidin between children with beta thalassemia major and beta thalassemia HbE.

Method. This is a diagnostic study with a cross-sectional design involving children thalassemia beta major and thalassemia beta HbE aged 1 month to 18 years, in 2 hospitals in South Sulawesi, Indonesia from July 2023 to June 2024. Venous blood samples were collected from each respondent and hepcidin levels were measured using the ELISA method.

Result. Of 31 samples, 21 (67.8%) with beta thalassemia major and 10 (32.2%) with beta thalassemia HbE. Median serum hepcidin levels for beta thalassemia major were 469.71 ng/ml with ranged from 21.52 to 3094.51 ng/ml, median serum hepcidin levels for beta thalassemia HbE were 429.37 ng/ml with ranged from 15.73 to 1981.31 ng/ml and the result with p-value = 0.466 ($p > 0.05$).

Conclusion. There was no significant difference between serum hepcidin levels in children with beta thalassemia major and children with beta thalassemia HbE.

Keywords: Beta thalassemia major, Beta thalassemia HbE, Hepcidin, children

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR ISTILAH/SINGKATAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah.....	5
I.3 Tujuan Penelitian.....	5
I.3.1 Tujuan Umum	5
I.3.2 Tujuan Khusus.....	5
I.4 Hipotesis Penelitian	5
I.5 Manfaat Penelitian.....	6
I.5.1 Manfaat Pengembangan Ilmu Pengetahuan.....	6
I.5.2. Manfaat untuk pengembangan / pemecahan masalah medis	6
I.5.3. Data penelitian selanjutnya	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
II.1. Thalassemia	7
II.1.1 Definisi thalassemia.....	7
II.1.2 Epidemiologi thalassemia.....	7
II.1.3 Patofisiologi thalassemia.....	8
II.1.4 Klasifikasi thalassemia	10
II.2 Thalassemia beta	11
II.2.1 Definisi thalassemia beta	11

II.2.2	Patofisiologi thalassemia beta.....	13
II.2.3	Manifestasi klinis	16
II.2.4	Pemeriksaan laboratorium thalassemia beta.....	19
II.2.5	Terapi thalassemia beta	21
II.2.6	Prognosis thalassemia beta	23
II.3	Thalassemia Beta HbE.....	24
II.3.1	Definisi thalassemia beta HbE	24
II.3.2	Patogenesis thalassemia beta HbE	25
II.3.3	Gejala Klinis.....	26
II.3.4	Pemeriksaan laboratorium beta HbE	27
II.3.5	Terapi thalassemia beta HbE	27
II.3.6	Prognosis thalassemia beta HbE	28
II.4.	Hepsidin.....	29
II.4.1.	Struktur hepsidin.....	29
II.4.2.	Produksi hepsidin.....	30
II.4.3.	Regulasi hepsidin.....	31
II.5	Hepsidin pada thalassemia beta dan beta HBE	36
II.5.1	Ekspresi gen hepsidin pada thalassemia beta.....	36
II.5.2.	Hepsidin dalam patogenesis thalassemia beta	37
II.5.3.	Kelebihan besi pada beta thalassemia-beta.....	38
II.5.4.	Eritropoiesis Inefektif pada thalassemia beta yang menekan hepsidin	45
II.6.	Kerangka Teori	49
BAB III	KERANGKA KONSEP.....	50
BAB IV	METODOLOGI PENELITIAN.....	51
IV.1.	Desain Penelitian	51
IV.2.	Tempat dan Waktu Penelitian	51
IV.3.	Populasi Penelitian.....	51
IV.3.1	Populasi Target	51
IV.3.2	Populasi Terjangkau.....	51
IV.3.3	Sampel Penelitian	51
IV.4.	Sampel dan Cara Pengambilan Sampel.....	52
IV.5.	Kriteria Inklusi dan Eksklusi	52
IV.5.1.	Kriteria inklusi	52
IV.5.2.	Kriteria eksklusi	52

IV.6. Perkiraan besar sampel	52
IV.7. Izin Penelitian dan <i>Ethical Clearance</i>	53
IV.8. Cara Kerja	53
IV.8.1. Alokasi subyek.....	53
IV.8.2 Cara penelitian	53
IV.8.3 Prosedur penelitian.....	54
IV.8.4. Alur Penelitian.....	55
IV.9. Identifikasi dan Klasifikasi Variabel.....	55
IV.9.1. Identifikasi variabel	55
IV.9.2. Klasifikasi variabel	55
IV.10. Definisi Operasional dan Kriteria Obyektif	56
IV.10.1. Definisi operasional	56
IV.10.2. Kriteria Obyektif	56
IV.11. Pengolahan dan Analisis Data	57
IV.11.1. Analisis Univariat	58
IV.11.2. Analisis Bivariat	58
IV.11.3 Penilaian Hasil Uji Hipotesis	58
BAB V HASIL PENELITIAN	59
V.1. Karakteristik Sampel Penelitian	60
V.2. Perbandingan Kadar hepsidin serum antara Thalassemia Beta Mayor dengan Non Thalassemia	61
V.3 Perbandingan Kadar hepsidin serum antara Thalassemia Beta HbE dengan Non Thalassemia.....	62
V.4. Perbandingan Kadar hepsidin serum antara Thalassemia Beta dengan Non Thalassemia	63
V.5. Perbandingan Kadar hepsidin serum antara Thalassemia Beta Mayor dengan Thalassemia Beta HbE	64
BAB VI PEMBAHASAN	66
VI.1. Karakteristik Sampel Berdasarkan Jenis Kelamin	67
VI.2. Karakteristik Sampel Berdasarkan Usia	68
VI.3. Karakteristik Sampel Berdasarkan Status Gizi	69
VI.4. Perbandingan Kadar hepsidin serum antara Thalassemia Beta Mayor ,Thalassemia Beta HbE dengan Non Thalassemia	70
VI.5. Perbandingan Kadar hepsidin serum antara Thalassemia Beta Mayor dengan Thalassemia Beta HbE	71

BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	76
VII.1. Kesimpulan	76
VII.2. Saran	76
DAFTAR PUSTAKA.....	77
LAMPIRAN	88

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Komplikasi akibat iron overloading pada thalassemia dependent transfuse (TDT) dan thalassemia yang tidak dependent terhadap transfuse (NTDT)	44
Tabel 2. Distribusi sampel penelitian	60
Tabel 3. Perbandingan kadar hepsidin serum antara thalassemia beta mayor dengan non thalassemia	62
Tabel 4. Perbandingan kadar hepsidin serum antara thalassemia beta HBE dengan non thalassemia	63
Tabel 5. Perbandingan kadar hepsidin serum antara thalassemia beta dengan non thalassemia	64
Tabel 5. Perbandingan kadar hepsidin serum antara thalassemia beta mayor dengan thalassemia beta HBE	65

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Peta distribusi thalassemia di dunia.....	8
Gambar 2.2.	Perubahan hemoglobin dari dalam kandungan dan setelah lahir.....	10
Gambar 2.3.	Penurunan gen pada thalassemia	11
Gambar 2.4.	Fenotip thalassemia beta	12
Gambar 2.5.	Patofisiologi thalassemia beta	15
Gambar 2.6.	Gambaran hair on end pada foto tulang tengkorak (A dan B); gambaran pelebaran medulla, penipisan korteks dan trabekulasi dan fraktur tulang panjang (C)	17
Gambar 2.7.	Gambaran morfologi dari hapusan darah tepi pasien beta thalassemia	19
Gambar 2.8.	Urutan prepropeptida hepsidin 84-asam amino.....	29
Gambar 2.9.	Struktur hepsidin berdasarkan nuclear magnetic resonance	30
Gambar 2.10.	Regulasi positif dan negative pada hepsidin	32
Gambar 2.11.	Pengaturan besi sistemik oleh hepsidin	35
Gambar 2.12.	Proses kelebihan besi pada thallasemia-beta	38
Gambar 2.13.	Efisiensi dari eritropoesis dan efek transfuse pada thalassemia beta	40
Gambar 2.14.	Mekanisme supresi eritroid oleh hepsidin.....	46
Gambar 2.15.	Kerangka teori	49
Gambar 3.16.	Kerangka konsep	50
Gambar 5.17.	Alur penelitian.....	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Naskah Penjelasan Untuk Mendapat Persetujuan Dari Keluarga/Subjek Penelitian	88
Lampiran 2. Formulir Persetujuan Mengikuti Penelitian	90
Lampiran 3. Prosedur Pengambilan Sampel.....	91
Lampiran 4. Etik Penelitian.....	97
Lampiran 5. Data Penelitian	99

DAFTAR ISTILAH/SINGKATAN

BMP	Bone Morphogenic Protein
BMPR	Bone Morphogenetic Protein Receptor
DMT-1	Divalent Metal Transporter 1
DNA	Deoxyribonucleic Acid
EGF	Epidermal Growth Factor
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
ELISA	<i>Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay</i>
EPO	<i>Erythropoietin</i>
EPOR	Erythropoietin Receptor
ERFE	Erythroferrone
ERK	Extracellular Signal-Regulated Kinase
GDF-15	Growth Differentiation Factor 15
HbE	Hemoglobin E
HFE	<i>Hemochromatosis Iron Protein</i>
HIF-1	Hipoxia Inducible Factor-1
HJV	Hemojuvelin
hs-CRP	High Sensitivity C-Reactive Protein
IL6	Interleukin 6
IMT	Indeks Massa Tubuh
JAK	Janus Kinase
LEAP-1	<i>Liver Expressed Antimicrobial Properties-1</i>
LED	Laju Endap Darah
MAPK	Mitogen Activated Protein Kinase
MHC	<i>Major Histocompatibility Complex</i>
mRNA	Messenger Ribonukleat Acid
NMR	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
NTBI	<i>Non-Transferin Bonding Iron</i>
PDGF-BB	Platelet-Derived Growth Factor-BB
PDGFR	Platelet-Derived Growth Factor Receptor

RM	Rekam Medis
ROC	<i>Receiver Operating Characteristics</i>
RSPTN	Rumah Sakit Perguruan Tinggi Negeri
RSUP	Rumah Sakit Umum Pusat
SGOT	<i>Serum Glutamic-Oxaloacetic Transaminase</i>
SGPT	<i>Serum Glutamic-Pyruvic Transaminase</i>
SMAD1/5/8	Sma and Mothers Against Decapentaplegic Homologue 1/5/8 Complex
SMAD4	Sma and Mothers Against Decapentaplegic Homologue 4
STAT3	Signal Transducer and Activator of Transcription 3
sTfR	<i>Soluble Transferrin Receptor</i>
TDT	Thalassemia Dependent Transfuse
TfR1	Transferrin Receptor 1
TfR2	Transferrin Receptor 2
TGF	<i>Transforming Growth Factor</i>
TIBC	<i>Total Iron-Binding Capacity</i>
TWSG1	<i>Twisted Gastrulation 1</i>

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Thalassemia mengacu pada sekelompok kelainan genetik produksi rantai globin di mana terdapat ketidakseimbangan antara produksi rantai α -globin dan β -globin (Kliegman *et al.*, 2016a). Pada populasi Mediterania, India dan Asia Tenggara, thalassemia β adalah varian genetik paling umum dari thalassemia mayor (Lokeshwar, 2016a).

Terdapat lebih dari 200 mutasi berbeda yang menyebabkan penurunan atau tidak adanya produksi globin. 3% populasi dunia membawa alel untuk thalassemia β , dan di Asia Tenggara 5-10% dari populasi membawa alel untuk thalassemia α (Kliegman *et al.*, 2016b). Diperkirakan setiap tahun sekitar 100.000 anak dengan thalassemia mayor dilahirkan di seluruh dunia. (MR lockeshwar). Thalassemia β -HbE adalah salah satu hemoglobinopati yang paling sering ditemukan. Insidensi thalassemia β -HbE mendekati 60% populasi penderita thalassemia di banyak daerah di Asia Tenggara (Turgeon, 2018).

Indonesia termasuk salah satu negara dalam sabuk thalassemia dunia, yaitu negara dengan frekuensi gen (angka pembawa sifat) thalassemia yang tinggi. Hal ini terbukti dari penelitian epidemiologi di Indonesia yang mendapatkan frekuensi gen thalassemia beta berkisar 3-10% (Kementrian Kesehatan, 2018a). Berdasarkan data dari Yayasan Thalassaemia Indonesia, terjadi peningkatan kasus thalassemia yang terus menerus sejak tahun 2012 (4896) hingga tahun 2018 (8761). Menurut Riskesdas 2007, 8 provinsi dengan prevalensi lebih tinggi dari prevalensi nasional, antara lain Provinsi Aceh (13,4‰), DKI Jakarta (12,3‰), Sumatera Selatan (5,4‰), Gorontalo (3,1‰), Kepulauan Riau (3,0‰), Nusa Tenggara Barat (2,6‰), Maluku (1,9‰), dan Papua Barat (2,2‰) (P2PTM Kemenkes RI, 2019).

Data Pusat Thalassemia, Departemen Ilmu Kesehatan Anak, FKUI-RSCM, sampai dengan bulan mei 2014 terdapat 1.723 pasien dengan rentang usia terbanyak antara 11-14 tahun. Jumlah pasien baru terus meningkat hingga 75-100 orang/tahun, sedangkan usia tertua pasien hingga saat ini adalah 43 tahun. Beberapa pasien sudah berkeluarga dan dapat memiliki keturunan, bahkan diantaranya sudah lulus menjadi sarjana. Penelitian oleh Wahidiyat pada tahun 1979 melaporkan usia angka harapan hidup pasien thalassemia rerata hanya dapat mencapai 8-10 tahun (Kementrian Kesehatan, 2018b).

Tingkat keparahan klinis thalassemia sangat bervariasi, mulai dari tanpa gejala hingga gejala klinis berat atau bahkan fatal. Tatalaksana utama didasarkan pada transfusi darah yang aman, memadai dan pencegahan kelebihan zat besi. Protokol transfusi darah bertujuan untuk meningkatkan konsentrasi hemoglobin menjadi 13-14 g/dl setelah transfusi, dan mempertahankannya pada 9-10 g/dl setiap saat (Kementrian Kesehatan, 2018b).

Hepcidin merupakan hormon peptida yang di sekresi oleh hepatosit, bersirkulasi di dalam plasma dan diekskresi dengan urin (Liu, 2016a). Hepcidin mengatur konsentrasi besi di plasma dan distribusi besi di berbagai jaringan. Disregulasi dari produksi hepcidin merupakan sebab kebanyakan penyakit yang diakibatkan oleh besi. Kelebihan hepcidin secara kronik menyebabkan anemia restriktif besi dan defisiensi hepcidin mengakibatkan kelebihan besi (*iron overload*) dengan deposisi besi di hati dan parenkim lainnya (Jo et al., 2021a).

Hepcidin pada fase reaktan akut diproduksi utamanya di hati dan berperan utama sebagai regulator negatif pada penyerapan besi di usus dan pelepasan besi dari makrofag. hepcidin pada pasien dengan thalassemia beta mayor dipengaruhi oleh efek berlawanan dari eritropoesis, anemia dan kelebihan besi (Pasricha et al., 2013a). Produksi hepcidin dikendalikan oleh efek supresif dari eritropoesis dan efek stimulasi dari kelebihan besi (Nemeth, 2013a).

Produksi hepsidin diatur oleh pengaruh berlawanan dari aktivitas eritropoietik. Pada thalassemia beta aktivitas erythropoietic meningkat sehingga produksi hepsidin menurun. Eritroblas yang dirangsang oleh erythropoietin menghasilkan mediator yang disekresikan yang bekerja di hati untuk menekan produksi hepsidin. Dengan demikian, eritropoiesis yang tidak efektif menjadi karakteristik dari Thalassemia beta mayor dan berkontribusi pada penurunan konsentrasi hepsidin untuk memastikan bahwa besi plasma tetap meningkat secara adekuat untuk produksi eritrosit. Oleh karena itu, kadar hepsidin serum yang rendah dianggap sebagai faktor penting yang berkontribusi terhadap hemokromatosis pada thalassemia beta (Nemeth, 2013b; Au, Benjamin and Wiśniewski, 2022). Bentuk bioaktif dan predominant hepsidin adalah asam amino-25 panjang dan terdiri dari empat ikatan sulfida yang lebih Panjang dari terminus amino. Konsentrasi hepsidin pada lima sampai sembilan puluh lima persen hepsidin pada individu sehat adalah 29-254 ng/ml pada laki-laki dan 17-286 ng/ml pada perempuan.

Rendahnya hepsidin pada Thalassemia beta dapat dijelaskan bahwa anemia, hipoksia di jaringan, dan peningkatan produksi eritropoietin (EPO) yang terlihat pada thalassemia beta mengakibatkan penekanan hepsidin dan peningkatan penyerapan besi sebagai respon terhadap kebutuhan besi oleh eritroblast. Salah satu sitokin dari kelompok *transforming growth factor* (TGF)-beta, yaitu *growth differentiation factor 15* (GDF15) meningkat (*upregulated*) pada serum pasien thalassemia dan dapat menekan ekspresi hepsidin di sel hepatoma atau sel hepatosit manusia yang diisolasi. *Twisted Gastrulation 1* (TWSG1) yang merupakan factor eritroit kedua yang diidentifikasi sebagai regulator hepsidin. Dalam sel manusia, TWSG1 menekan hepsidin secara tidak langsung dengan menghambat efek pensinyalan dan regulasi peningkatan hepsidin terkait oleh protein morfogenik tulang 2 dan 4 (BMP2/BMP4) (Tanno et al., 2009a; Leecharoenkiat et al., 2016a).

Hepcidin yang rendah mengakibatkan peningkatan penyerapan besi di usus. Setelah transfuse, keadaan eritropoesis yang tidak efektif menjadi sedikit membaik, sehingga mengakibatkan naiknya hepsidin (Nemeth, 2013b). Parischa dkk dalam penelitiannya memperlihatkan bahwa kadar hepsidin serum lebih rendah dari yang diekspektasikan pada pasien dengan thalassemia beta mayor yang mana mengalami keadaan kelebihan besi yang tinggi karena eritropoesis yang aktif (Nemeth, 2013b; Pasricha et al., 2013b). Oleh karena itu, perhitungan kadar hepsidin serum mungkin dapat membantu dalam memonitor manajemen eritropoesis yang tidak efektif pada pasien dengan thalassemia beta, dan juga komplikasi-komplikasi terkait kelebihan besinya (Nemeth, 2013b).

Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa supresi hepsidin lebih besar pada pasien dengan thalassemia intermedia daripada thalassemia mayor. Pada pasien *carrier* β -thalassemia, tetapi bukan *carrier* HbE dilaporkan meningkatkan eritropoesis yang berhubungan dengan menekan regulasi hepsidin (Jones, S. R. Pasricha, et al., 2015a). Meskipun demikian, belum ada penelitian sebelumnya yang menjelaskan perbedaan hepsidin antara thalassemia beta mayor dengan HbE.

Berdasarkan hal tersebut diatas, penelitian untuk melihat hepsidin pada pasien thalassemia **penting** untuk dilakukan karena pasien thalassemia cenderung mengalami penekanan hepsidin. Penekanan hepsidin ini dapat menyebabkan kelebihan besi dimana hepsidin seharusnya mengalami kenaikan, sehingga kelebihan besi ini menyebabkan bertambahnya morbiditas dan memperberat kondisi pasien.

Penurunan hepsidin menyebabkan kelebihan penambahan besi (*iron overloading*) dan kondisi ini menyebabkan komplikasi seperti disfungsi hati, disfungsi endokrin, gangguan/penyakit jantung, disfungsi ginjal, dan gangguan hormonal lainnya. Oleh karena itu penelitian ini **perlu** dilakukan agar dapat digunakan dalam upaya menurunkan dan mencegah morbiditas dan mortalitas thalassemia beta mayor.

Penelitian yang melihat kadar hepsidin serum pada pasien thalassemia beta mayor **belum pernah** dilakukan di Makassar sehingga penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan pengetahuan kita untuk aplikasi klinik yang lebih baik di masa mendatang.

I.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah di atas dapat dirumuskan pertanyaan penelitian yaitu: Apakah ada perbedaan hepsidin antara anak dengan thalassemia beta mayor dan thalassemia beta HbE?

I.3 Tujuan Penelitian

I.3.1 Tujuan Umum

Membandingkan hepsidin antara anak dengan thalassemia beta mayor dan thalassemia beta HbE.

I.3.2 Tujuan Khusus

1. Membandingkan hepsidin pada anak thalassemia beta mayor dengan hepsidin anak non thalassemia
2. Menentukan hepsidin pada anak thalassemia beta HbE dengan hepsidin anak non thalassemia
3. Membandingkan hepsidin antara anak thalassemia beta mayor dengan hepsidin anak dengan thalassemia beta HbE
4. Membandingkan hepsidin antara anak thalassemia beta dengan anak non thalassemia

I.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah:

1. Ada perbedaan yang signifikan secara statistik antara hepsidin pada anak thalassemia beta mayor dibandingkan pada anak thalassemia beta HbE.

2. Hepsidin pada anak thalassemia beta mayor lebih tinggi dibandingkan pada anak thalassemia beta HbE.

I.5 Manfaat Penelitian

I.5.1 Manfaat Pengembangan Ilmu Pengetahuan

1. Memberikan pengetahuan tentang gambaran serta presentasi risiko kejadian penurunan kadar hepsidin serum anak dengan thalassemia beta mayor dan thalassemia beta HbE.
2. Data penelitian ini dapat menjadi dasar penelitian lanjut dalam hal terkait kadar hepsidin serum pada anak dengan thalassemia.

I.5.2. Manfaat untuk pengembangan / pemecahan masalah medis

1. Apabila terbukti ada perbedaan kadar hepsidin serum pada anak dengan thalassemia, penelitian ini akan membantu klinisi dalam memberikan penatalaksanaan dalam mengurangi serta mencegah risiko kelainan penyakit yang mungkin terjadi pada anak dengan thalassemia.
2. Hasil penelitian ini dapat menjadi pertimbangan dilakukan *screening* awal kasus iron overloading pada anak dengan thalassemia.

I.5.3. Data penelitian selanjutnya

Data penelitian ini dapat dilakukan sebagai dasar penelitian selanjutnya dibidang hemato-onkologi, khususnya penelitian *cross sectional* untuk menilai hepsidin pada anak thalassemia dalam hal hubungannya dengan terjadinya iron overloading, gejala-gejala terkait dengan kelebihan besi dan komplikasinya seperti disfungsi hati, disfungsi ginjal, disfungsi endokrin, gangguan/penyakit jantung dan gangguan hormonal.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Thalassemia

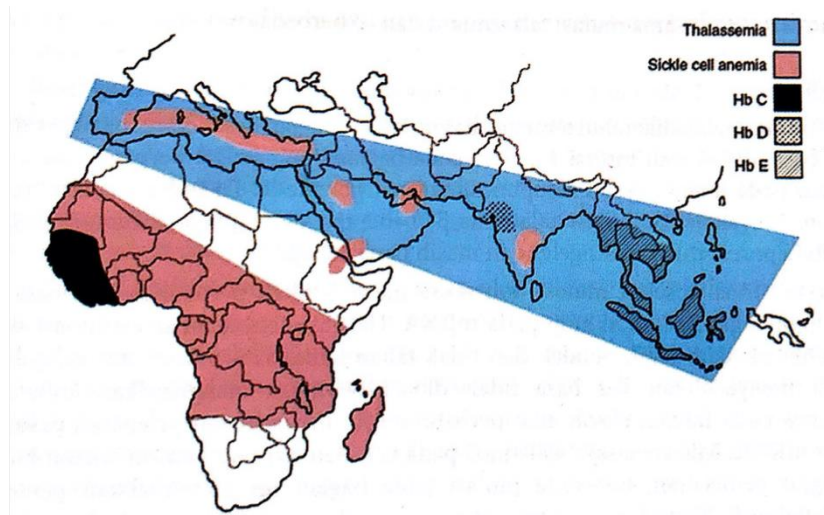
II.1.1 Definisi thalassemia

Thalassemia adalah sekelompok kelainan darah heterogen yang mempengaruhi gen hemoglobin dan mengakibatkan eritropoiesis yang tidak efektif (Bajwa and Basit, 2022a). Istilah thalassemia berasal dari istilah Yunani yang secara kasar berarti "laut" (Mediterrania) dalam darah. Istilah ini pertama kali diterapkan pada anemia yang sering ditemui pada orang-orang dari pantai Italia, Yunani dan pulau-pulau terdekat. Saat ini, istilah thalassemia digunakan untuk merujuk pada kelainan bawaan dalam biosintesis rantai globin. Masing-masing kelainan diberi nama sesuai dengan rantai globin yang sintesisnya terpengaruh. Bila rantai α -globin tidak ada atau berkurang disebut dengan thalassemia α , rantai β -globin pada pasien dengan thalassemia β , δ -globin dan rantai β -globin pada pasien thalassemia δ , dan sebagainya. Dalam beberapa konteks, juga berguna untuk mensubklasifikasikan thalassemia berdasarkan apakah sintesis rantai globin yang terkena tidak diproduksi sama sekali (mis., thalassemia β^0) atau hanya berkurang sebagian (mis., thalassemia β^+) (Hoffman et al., 2018a).

II.1.2 Epidemiologi thalassemia

Thalassemia ditemukan di hampir setiap kelompok etnis dan lokasi geografis. Gen pembawa thalassemia terdapat pada 1,5% dari populasi dunia dan paling umum di daerah Mediterania dan daerah tropis atau subtropis di Asia dan Afrika. "*Thalassemia Belt*" memanjang di sepanjang pantai Mediterania dan di seluruh semenanjung Arab, Turki, Iran, India, Asia tenggara, terutama Thailand, Kamboja, dan Cina selatan (Hoffman et al., 2018b). Angka kejadian thalassemia di Asia tenggara secara keseluruhan sebesar 22,6%. Prevalensi thalassemia tertinggi diamati di

Vietnam (51,5%) diikuti oleh Kamboja (39,5%), Laos (26,8%), Thailand (20,1%), dan Malaysia (17,3%) (Shivappa et al., 2021).



Gambar 2.1. Peta distribusi thalassemia di dunia (Windiastruti et al., 2018a)

II.1.3 Patofisiologi thalassemia

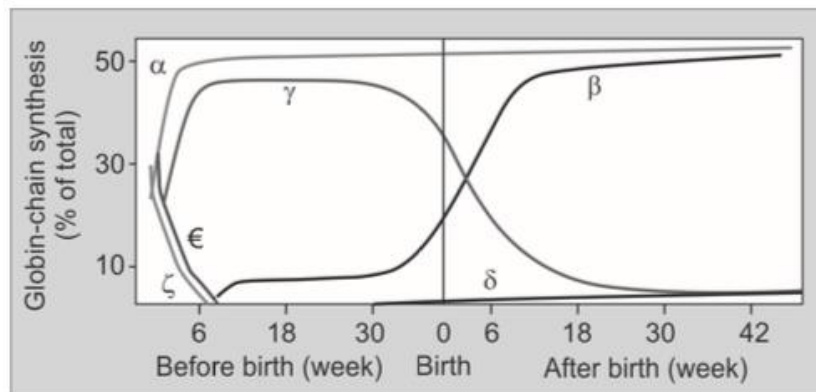
Thalassemia (thal) adalah resesif autosomal, hereditas, anemia hemolitik kronis karena kekurangan parsial atau lengkap dalam sintesis rantai α -globin (α -thal) atau rantai β -globin (β -thal) yang menyusun hemoglobin dewasa utama. Hal ini disebabkan oleh satu atau lebih mutasi pada gen yang sesuai. Rantai globin yang tidak berpasangan tidak stabil mengendap secara intraseluler, mengakibatkan hemolisis, penghancuran prematur sel darah merah prekursor di sumsum tulang, dan menyebabkan rentang sel darah merah matang dalam sirkulasi yang berumur pendek (Fibach and Rachmilewitz, 2017a).

Gejala klinis thalassemia terjadi karena lesi primer mempengaruhi rantai α - atau β -globin yang diperlukan untuk sintesis hemoglobin dewasa (Hb A), dengan struktur normal $\alpha_2\beta_2$. Gangguan pada produksi γ -, ϵ -, atau ζ -globin. Salah satu konsekuensi dari berkurangnya produksi rantai globin adalah berkurangnya produksi tetramer Hb fungsional. Akibatnya, terjadi hipokromia dan mikrositosis yang karakteristik pada hampir semua pasien

thalassemia. Fenomena tersebut hampir tidak terdeteksi pada thalassemia ringan (Hoffman et al., 2018b).

Konsekuensi kedua dari gangguan biosintesis globin adalah sintesis yang tidak seimbang dari masing-masing subunit α dan β . Tetramer Hb sangat larut dan memiliki sifat pembawa oksigen reversibel untuk transportasi dan pengiriman oksigen dalam kondisi fisiologis. Rantai α -, β -, dan γ -globin bebas atau "tidak berpasangan" sangat tidak larut atau membentuk homotetram (HbH dan Hb Bart) yang tidak mampu melepaskan oksigen secara normal, dan karena relatif tidak stabil, akan mengendap dengan bertambahnya usia sel. Pada thalassemia yang berat, akumulasi rantai globin yang tidak berpasangan lebih mendominasi patofisiologi thalassemia daripada produksi tetramer Hb yang kurang berfungsi. Komplikasi dari patofisiologi ini beragam dan tergantung pada jumlah dan identitas rantai globin yang terakumulasi secara berlebihan (Hoffman et al., 2018b).

Hb yang beredar beredar pada saat kelahiran adalah hemoglobin janin (Hb F ($\alpha_2\gamma_2$)). Meskipun peralihan dari biosintesis γ - ke β -globin dimulai sebelum kelahiran, komposisi Hb dalam darah perifer berubah jauh setelahnya karena masa hidup sel darah merah normal yang bersirkulasi (sekitar 120 hari). HbF secara perlahan digantikan oleh HbA sehingga bayi tidak sangat bergantung pada jumlah dan fungsi HbA sampai mereka berusia antara 4-6 bulan. Konsekuensi patofisiologis dari hal ini adalah hemoglobinopati rantai α cenderung bergejala di dalam kandungan dan saat lahir, sedangkan individu dengan kelainan rantai β tidak menunjukkan gejala sampai usia 4 hingga 6 bulan. Perbedaan-perbedaan dalam timbulnya ekspresi fenotipik ini muncul karena rantai α diperlukan untuk membentuk HbF dan HbA, tetapi rantai β hanya diperlukan untuk HbA (Hoffman et al., 2018b).



Gambar 2.2. Perubahan hemoglobin dari dalam kandungan dan setelah lahir (Lokeshwar, 2016b)

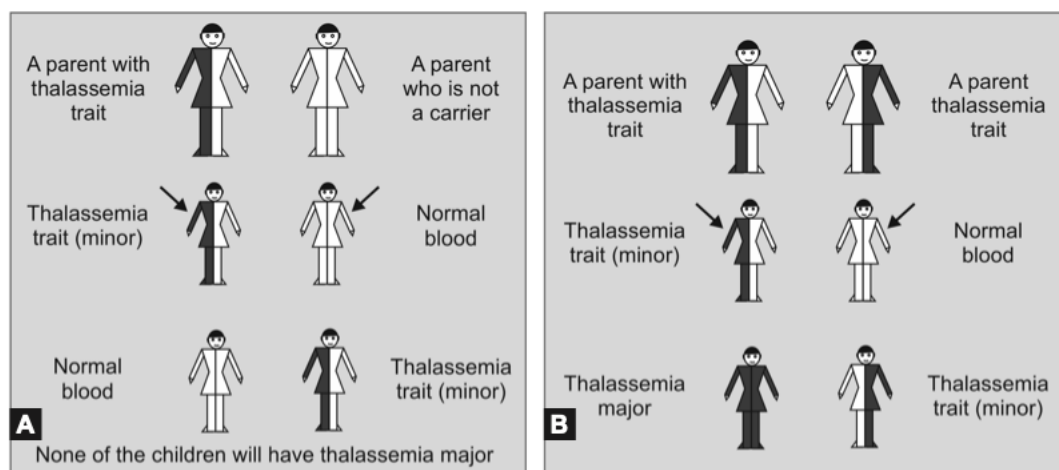
II.1.4 Klasifikasi thalassemia

Thalassemia adalah kelompok kelainan sintesis Hb yang heterogen akibat pengurangan produksi ≥ 1 rantai globin. Hal ini menyebabkan ketidakseimbangan produksi rantai globin (Windiastruti et al., 2018b). Spektrum keparahan penyakit disebabkan oleh pewarisan bi-allelik dari dua salinan gen beta-globin, satu pada setiap kromosom 11, serta kumpulan mutasi penyebab penyakit yang heterogen. Variabilitas genotip sintesis beta-globin ditunjuk sebagai beta(+) untuk penurunan produksi dan beta(0) untuk tidak adanya produksi. Variabilitas fenotipik ditunjuk sebagai minor, intermedia, atau mayor. Thalassemia beta minor adalah heterozigositas dengan satu gen beta-globin yang tidak terpengaruh dan satu yang terpengaruh, baik beta(+) atau beta(0). Homozigositas atau heterozigositas majemuk dengan beta(+) atau beta(0) menyebabkan intermedia dan mayor. Keduanya dibedakan secara klinis oleh tingkat keparahan anemia dan bukan oleh genotipe (Needs, Gonzalez-Mosquera and Lynch, 2022a).

Thalassemia juga bisa diklasifikasikan secara genetik menjadi thalassemia- α , - β , - β /HbE atau - $\delta\beta$, sesuai dengan rantai globin yang berkurang produksinya. Pada beberapa thalassemia sama sekali tidak terbentuk rantai globin disebut thalassemia - $\alpha\alpha$ atau $\beta\beta$, bila produksinya rendah, thalassemia- α^+ atau β^+ . Sedangkan thalassemia - $\delta\beta$ bisa

dibedakan menjadi $(\delta\beta)^0$, dan $(\delta\beta)^+$ dimana terjadi gangguan pada rantai δ dan β . (Windiastuti et al., 2018b)

Bila thalassemia timbul pada populasi dimana terdapat variasi Hb struktural, seringkali diturunkan gen thalassemia dari satu orang tua dan gen varian hemoglobin dari orangtua lainnya. Lebih jauh lagi, mungkin pula didapatkan thalassemia α dan β bersamaan. Interaksi dari beberapa gen ini menghasilkan gambaran klinis yang bervariasi mulai dari kematian dalam rahim sampai gejala klinis yang sangat ringan. Thalassemia diturunkan berdasarkan hukum Mendel, resesif atau ko-dominan. Heterozigot biasanya tanpa gejala sedangkan homozigot atau gabungan heterozigot gejalanya lebih berat dari thalassemia α atau β (Windiastuti et al., 2018b).



Gambar 2.3. Penurunan gen pada thalassemia (Lokeshwar, 2016b)

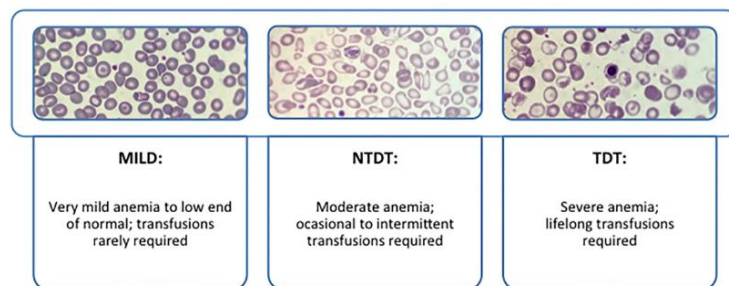
II.2 Thalassemia beta

II.2.1 Definisi thalassemia beta

Thalassemia β merupakan penyakit bawaan dengan tingkat keparahan fenotipik yang luas. Manifestasi penyakit terjadi dalam bentuk anemia kronis serta patologi signifikan yang terkait dengan ekspansi sumsum tulang dan hematopoiesis ekstrameduler (Needs, Gonzalez-Mosquera and Lynch, 2022b). Thalassemia β memiliki spektrum klinis yang

luas, dan diklasifikasikan menjadi thalassemia mayor, thalassemia intermedia, dan thalassemia minor (Sanchez-Villalobos et al., 2022a).

Thalassemia β mayor, juga dikenal sebagai Cooley anemia atau thalassemia β -homozigot, adalah gangguan klinis berat yang dihasilkan dari pewarisan dua alel thalassemia β , satu pada setiap salinan kromosom 11. Sebagai konsekuensi dari berkurangnya sintesis Hb A, sel darah merah yang beredar sangat hipokromik, bentuknya tidak normal, dan mengandung jumlah Hb yang sangat kurang. Akumulasi rantai α -globin bebas menyebabkan pengendapan agregat dari rantai-rantai ini sehingga merusak eritrosit dan sel-sel prekursorinya dalam sumsum tulang. Anemia pada thalassemia mayor sangat berat sehingga transfusi darah jangka panjang biasanya diperlukan untuk bertahan hidup (Hoffman et al., 2018b). Thalassemia mayor mengelompokkan pasien dengan anemia yang lebih parah sejak usia dini yang membutuhkan transfusi darah berkala yang terkait dengan kelasi besi seumur hidup (Sanchez-Villalobos et al., 2022b).



Gambar 2.4 Fenotip thalassemia beta (Sanchez-Villalobos et al., 2022b).

Thalassemia intermedia merupakan kelompok dengan spektrum klinis yang bervariasi, dari anemia ringan hingga sedang hingga sedang hingga berat, yang tidak memerlukan transfusi darah secara teratur, kadang-kadang hanya kadang-kadang, tetapi mengembangkan berbagai komplikasi talasemia seperti hematopoiesis ekstrameduler, hipertensi pulmonal, kelebihan zat besi, borok kaki, kelainan bentuk tulang, dan retardasi pertumbuhan (Sanchez-Villalobos et al., 2022b). Thalassemia ini merupakan hasil dari pewarisan dua mutasi thalassemia β , satu ringan dan satu berat; warisan dua mutasi ringan; atau, kadang-kadang, pewarisan

kombinasi kompleks, seperti defek thalassemia β tunggal dan kelebihan gen α -globin normal, atau dua mutasi thalassemia β yang diturunkan bersamaan dengan heterozigot thalassemia α (dikenal sebagai thalassemia $\alpha\beta$, alel thalassemia- α mengurangi beban rantai α yang tidak berpasangan). Heterozigositas sederhana untuk bentuk-bentuk tertentu dari hemoglobinopati thalassemia β juga dapat dikaitkan dengan fenotip thalassemia intermedia, yang disebut thalassemia β dominan (Hoffman et al., 2018b).

Thalassemia minor, juga dikenal sebagai thalassemia β -*trait* atau thalassemia- β heterozigot, disebabkan oleh adanya mutasi tunggal thalassemia β dan gen β -globin normal di sisi lain kromosom. Hal ini ditandai dengan mikrositosis berat dengan hipokromia tetapi anemia ringan atau minimal. Secara umum, thalassemia minor tidak memiliki gejala, meskipun kolelitiasis dilaporkan sebagai hasilnya hemolisis pada populasi ini (Hoffman et al., 2018b). Thalassemia minor, manifestasi yang kurang parah, ditandai oleh orang dengan anemia asimtomatik ringan dan kondisi heterozigot (sifat) untuk talasemia (Sanchez-Villalobos et al., 2022b).

II.2.2 Patofisiologi thalassemia beta

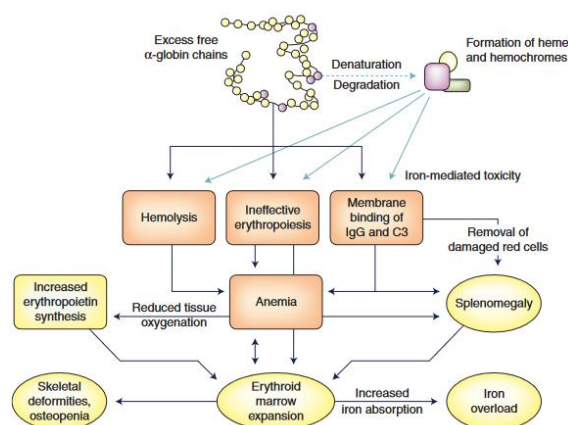
Patogenesis beta-thalassemia terjadi karena dua hal. Pertama, ada penurunan sintesis hemoglobin yang menyebabkan anemia dan peningkatan HbE dan HbA₂ karena ada penurunan rantai beta untuk pembentukan HbA. Kedua, dan yang paling signifikan secara patologis pada beta-thalassemia mayor dan intermedia, kelebihan rantai alfa relatif membentuk inklusi rantai alfa yang tidak dapat larut yang menyebabkan hemolisis intramedulla yang nyata. Eritropoiesis yang tidak efektif ini menyebabkan anemia berat dan hiperplasia eritroid dengan ekspansi sumsum tulang dan hematopoiesis ekstrasmeduler. Ekspansi sumsum tulang menyebabkan deformitas tulang, khas dari tulang wajah yang menyebabkan penonjolan frontal dan rahang atas. Sinyal biokimia dari ekspansi sumsum yang melibatkan jalur protein morfogenetik tulang (BMP)

menghambat produksi hepsidin yang menyebabkan hiperabsorpsi besi. Pasien yang tidak dirawat dengan baik dan pasien yang bergantung pada transfusi berisiko mengalami kelebihan zat besi yang merusak organ akhir. Hepatosplenomegali dari hematopoiesis ekstraspluler dan hemolisis yang sedang berlangsung juga menyebabkan trombositopenia dan disfungsi hati (Needs, Gonzalez-Mosquera and Lynch, 2022b).

Pertanda biokimia thalassemia β adalah berkurangnya biosintesis dari subunit β -globin dari Hb A ($\alpha_2\beta_2$). Pada thalassemia β heterozigot, sintesis β -globin berkurang lebih setengah dari normal, (Rasio sintesis mRNA rantai β - ke α (rasio β / α) 0,5-0,7 (normal = 1.0). Rasio ini memiliki korelasi langsung dengan tingkat keparahan klinis pada pasien thalassemia β . Pada thalassemia β^0 homozigot, meliputi sepertiga dari semua pasien thalassemia, tidak memiliki sintesis β -globin. Sintesis β -globin berkurang hingga 5% hingga 30% dari level normal pada thalassemia β^+ homozigot atau thalassemia β^+/β^0 -heterozigot, yang menyumbang sekitar dua pertiga kasus thalassemia (Hoffman et al., 2018b).

Individu yang mewarisi dua alel thalassemia β mengalami lebih banyak defisit dari produksi rantai β . Sedikit atau tidak ada Hb A yang diproduksi, dan yang terpenting, ketidakseimbangan produksi α - dan β -globin jauh lebih besar. α -globin bebas terakumulasi, dan agregat rantai α yang tidak berpasangan mengendap dan membentuk badan inklusi, yang menyebabkan kerusakan membran oksidatif dalam sel darah merah yang berakibat apoptosis dan penghancuran eritroblas yang belum berkembang dalam sumsum tulang. Akibatnya, relatif sedikit prekursor eritroid yang mengalami maturasi dalam sumsum tulang bertahan cukup lama untuk dilepaskan ke dalam aliran darah sebagai eritrosit. Eritrosit yang jarang terbentuk ini pada pasien thalassemia memiliki badan inklusi. Sel retikuloendotelial di limpa, hati, dan sumsum tulang mengeliminasi sel-sel abnormal ini secara prematur, yang mengurangi kelangsungan hidup sel darah merah sebagai konsekuensi dari anemia hemolitik (Hoffman et al., 2018b).

Sintesis β -globin yang terganggu memberikan setidaknya tiga efek berbeda namun saling terkait pada kapasitas pembawa oksigen untuk darah perifer: (1) eritropoiesis inefektif, yang mengganggu produksi sel darah merah baru; (2) anemia hemolitik, yang mempersingkat kelangsungan hidup beberapa sel darah merah yang diproduksi; dan (3) hipokromia dengan mikrositosis, yang mengurangi kapasitas pembawa oksigen dari beberapa sel darah merah yang bertahan hidup. Defisit yang sangat besar dalam kapasitas pembawa oksigen darah merangsang produksi EPO dalam upaya meningkatkan kompensasi hiperplasia eritroid. Sayangnya, kemampuan sumsum tulang untuk merespons sangat terganggu oleh eritropoiesis inefektif. Ekspansi sumsum tulang masif memang terjadi, tetapi sangat sedikit eritrosit yang benar-benar ke sirkulasi. Sumsum tulang menjadi penuh dengan prekursor eritroid yang belum matang dan precursor eritroid ini mati akibat beban rantai α -globin yang mengendap, sebelum mereka mencapai tahap retikulosit. Anemia berat yang terus terjadi, mendorong hiperplasia eritroid ke tingkat yang lebih tinggi. Dalam beberapa kasus, erythropoiesis terjadi sangat masif sehingga terbentuk massa jaringan eritropoietik ekstrasmedullary di dada, perut, atau panggul (Hoffman et al., 2018b).



Gambar 2.5 Patofisiologi thalassemia beta (Arthur W. Nienhuis and Nathan, 2012)

Gambar 2.5 menjelaskan patofisiologi thalassemia beta yaitu karena ketidakseimbangan dalam sintesis rantai, kelebihan rantai aglobin yang

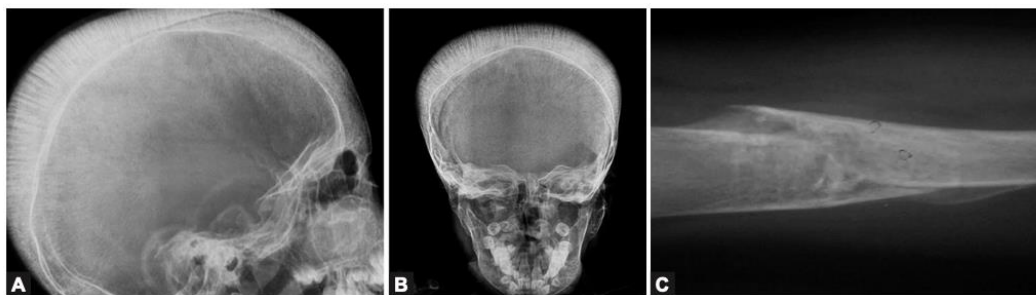
dibebaskan terakumulasi dalam sel eritroid. Agregasi, denaturasi, dan degradasi rantai ini mengarah pada pembentukan endapan yang tidak larut serta hemikrom, yang merusak membran sel. Kerusakan membran menyebabkan eritropoiesis yang tidak efektif dalam sumsum tulang, hemolisis sel darah merah dalam sirkulasi, dan pengikatan komponen imunoglobulin dan komplemen ke membran sel darah merah, memicu hilangnya sel darah merah di limpa. Anemia yang dihasilkan menyebabkan oksigenasi jaringan berkurang, peningkatan eritropoietin, dan stimulasi lebih lanjut dari sumsum tulang. Ekspansi sumsum tulang menyebabkan kelainan bentuk tulang dan osteopenia. Zat yang dilepaskan dari sel darah merah yang mengalami degenerasi meningkatkan penyerapan zat besi, yang berkontribusi terhadap kelebihan zat besi (Arthur W. Nienhuis and Nathan, 2012).

II.2.3 Manifestasi klinis

Bayi dengan thalassemia β -major dilahirkan tanpa anemia secara signifikan dikarenakan masih terdapat HbF prenatal. Namun demikian, kekurangan sintesis rantai β dapat ditunjukkan saat lahir. Manifestasi klinis biasanya muncul selama 6 bulan kedua kehidupan sebagai konsekuensi dari sintesis β -globin yang terganggu pada produksi Hb. Diagnosis hampir selalu terlihat pada usia 2 tahun (Hoffman et al., 2018b).

Perjalanan penyakit bergantung hampir sepenuhnya pada apakah anak mendapat transfusi yang memadai. Jika transfusi yang memadai dimungkinkan, anak dapat tumbuh dan berkembang secara normal dan tidak memiliki tanda-tanda fisik yang abnormal. Gejala klinis timbul akibat efek zat besi berlebih yang disebabkan oleh eritropoiesis inefektif dan dari transfusi darah berulang yang bermanifestasi pada akhir dekade pertama. Anak yang diobati dengan kelasi besi yang adekuat dapat berkembang secara normal, meskipun beberapa dari mereka tetap pendek (Kaushansky et al., 2016a).

Anak yang ditransfusikan secara tidak adekuat menimbulkan gambaran khas anemia Cooley. Pertumbuhan biasanya terhambat, terdapat penonjolan pada tulang tengkorak dan pertumbuhan berlebihan pada daerah rahang atas, wajah secara bertahap menyerupai penampilan "mongoloid". Perubahan-perubahan ini dapat dilihat pada penampilan radiologis yang khas pada tengkorak, tulang panjang, dan tangan. Diploe melebar, dengan penampilan "*hair on end*" atau "*sun ray*" dan trabekulasi berenda tulang panjang dan tangan. Kerusakan tulang secara menyeluruh dapat terjadi. Hati dan limpa membesar, dan pigmen kulit meningkat. Banyak fitur dari keadaan hipermetabolik, contohnya demam, wasting, dan hiperurisemia, dapat terjadi (Kaushansky et al., 2016b).



Gambar 2.6. Gambaran hair on end pada foto tulang tengkorak (A dan B); gambaran pelebaran medulla, penipisan korteks dan trabekulasi dan fraktur tulang panjang (C) (Lokeshwar, 2016b)

Perjalanan klinis sering ditandai dengan anemia berat dengan komplikasi. Anak dengan thalassemia sangat rentan terhadap infeksi, yang merupakan penyebab umum kematian. Fraktur spontan terjadi secara umum sebagai akibat dari ekspansi rongga sumsum tulang dengan penipisan tulang panjang dan tengkorak. Kelainan bentuk maksila sering menyebabkan masalah gigi akibat maloklusi. Pembentukan endapan masif dari jaringan hematopoietik ekstraseluler dapat menyebabkan komplikasi neurologis. Pada splenomegali yang masif, trombositopenia sekunder dan leukopenia sering terjadi, yang menyebabkan kecenderungan infeksi dan perdarahan. Splenektomi sering dilakukan untuk mengurangi frekuensi transfusi dan trombositopenia berat; Namun, infeksi pasca splenektomi

sangat umum terjadi. Kecenderungan perdarahan dapat pula terjadi dengan adanya trombositopenia. Epistaksis juga merupakan hal yang sangat umum. Masalah hemostasis terkait dengan fungsi hati yang buruk terjadi dalam beberapa kasus. (Kaushansky et al., 2016b)

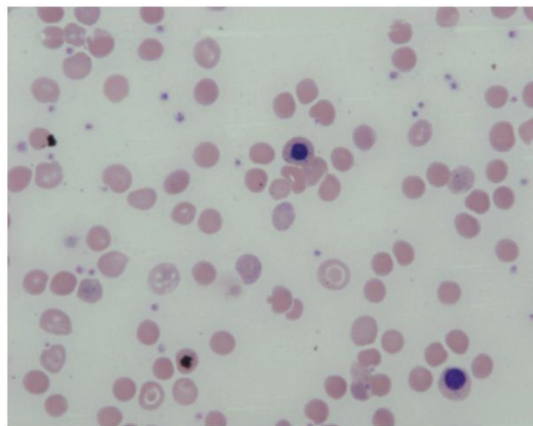
Anak-anak yang telah tumbuh dan berkembang secara normal selama 10 tahun pertama kehidupan mulai memperlihatkan gejala-gejala pemuatan zat besi ketika mereka memasuki masa pubertas akibat dari transfusi darah yang rutin dilakukan, terutama jika mereka belum mendapatkan kelasi besi yang memadai. Indikasi pertama dari pemuatan zat besi biasanya adalah tidak adanya percepatan pertumbuhan pubertas dan kegagalan menarche. Selama tahun-tahun berikutnya, berbagai gangguan endokrin dapat terjadi, terutama diabetes mellitus, hipogonadisme hipogonadotropik, dan defisiensi hormon pertumbuhan. Hipotiroidisme dan insufisiensi adrenal lebih jarang terjadi. Menjelang akhir dekade kedua, komplikasi jantung muncul, dan kematian biasanya terjadi pada dekade kedua atau ketiga sebagai akibat dari siderosis jantung. Siderosis jantung dapat menyebabkan kematian yang diakibatkan oleh aritmia, atau gagal jantung yang tidak dapat diatasi. Kedua komplikasi ini dapat diperberat oleh infeksi. (Kaushansky et al., 2016b)

Beberapa manifestasi klinis thalassemia diantaranya anemia. Pasien dengan thalassemia beta berat menunjukkan derajat anemia yang bervariasi tetapi seringkali sangat parah, perluasan ruang sumsum tulang akibat hiperplasia eritroid, hepatosplenomegali, dan hematopoiesis ekstrasmeduler di dada dan perut. Penampilan luar ditandai dengan pucat dan sedikit ikterus, frontal bossing dan kelainan fasies lainnya akibat ekspansi sumsum, dan pembesaran abdomen akibat hepatosplenomegali. Manifestasi klinis kelebihan zat besi mendominasi fenotipe klinis individu dengan thalassemia beta berat. Kelainan jantung termasuk aritmia, baik atrium dan ventrikel, dan/atau gagal jantung kongestif juga menjadi manifestasi thalassemia. Deposisi besi progresif juga menjadi karakteristik pada pasien dengan thalassemia berat berat. Akumulasi zat besi sampai 7

mg/g hati (berat kering) dapat ditoleransi dengan baik, tetapi karena konsentrasi zat besi hati meningkat dengan transfusi reguler dan tidak ada atau tidak adekuatnya khelasi, fibrosis di daerah periportal dan akhirnya terjadi sirosis (Arthur W. Nienhuis and Nathan, 2012).

II.2.4 Pemeriksaan laboratorium thalassemia beta

Anemia pada thalassemia mayor ditandai oleh hipokromia berat dan mikrositosis. Hb menurun secara progresif selama bulan-bulan pertama kehidupan. Ketika anak menjadi simptomatik, Hb mungkin serendah 3-4 g / dL. Morfologi sel darah merah sangat tidak normal, dengan banyak mikrositik, poikilositosis, *tear drop cell*, dan sel target. Temuan karakteristik adalah adanya sel hipokromik yang luar biasa, sering sel berkerut dan terlipat (*leptosit*) yang mengandung badan inklusi tidak teratur dari rantai α -globin yang mengendap (Hoffman et al., 2018b).



Gambar 2.7 Gambaran morfologi dari hapusan darah tepi pasien beta thalassemia (Hoffman et al., 2018b)

Sel darah merah berinti sering hadir dalam sirkulasi perifer. Jumlah retikulosit adalah 2% hingga 8% lebih rendah dari yang diharapkan mengingat hiperplasia eritroid ekstrem dan hemolisis. Jumlah yang rendah mencerminkan keparahan dari kerusakan eritroblast intrameduler. Jumlah sel darah putih meningkat. Leukositosis polimorfonuklear dalam jumlah sedang dan jumlah trombosit normal adalah khas kecuali jika telah terjadi

hipersplenisme. Sumsum tulang menunjukkan hiperselularitas yang ditandai oleh hiperplasia eritroid. Prekursor sel darah merah menunjukkan hemoglobinisasi yang rusak dan pengurangan jumlah sitoplasma. Terjadi kerentanan osmotik yang sangat abnormal. Sel darah merah sangat resisten terhadap hemolisis dalam larutan natrium klorida hipotonik sehingga beberapa tidak sepenuhnya hemolisis bahkan dalam air. Sebelum terapi transfusi dimulai, serum besi dan saturasi transferin sudah meningkat sebagai akibat dari peningkatan penyerapan zat besi (Hoffman et al., 2018b). Pada pasien dengan thalassemia beta intermedia, nilai feritin serum >800 dan <300 g/l digunakan untuk menunjukkan perlunya inisiasi atau penghentian kelas besi (Salah et al., 2017a).

Profil Hb menunjukan HbF yang dominan. Pada pasien dengan thalassemia β^0 homozigot, tidak ada HbA yang ditemukan sepanjang hidup. HbA tidak terdeteksi pada bayi baru lahir dengan thalassemia β^+ dan berkurang jumlahnya di kemudian hari. HbA2 dalam thalassemia mayor bervariasi, mungkin dikarenakan peningkatan jumlah sel F yang menurunkan HbA2. Kelainan biokimia lainnya dari sel darah merah dalam kasus thalassemia mayor termasuk persistensi antigen I postnatal dan penurunan karbonik anhidrase sel darah merah; Temuan ini mungkin juga disebabkan oleh peningkatan sel F yang beredar (Hoffman et al., 2018b).

Pasien akan tampak ikterus; bilirubin tak terkonjugasi ada dikisaran 2,0-4,0 mg / dL pada saat diagnosis tetapi dapat meningkat secara substansial karena anemia yang memburuk tanpa adanya transfusi. Kelangsungan hidup sel darah merah dalam kasus thalassemia mayor bervariasi tetapi biasanya sangat menurun. Waktu paruh kreatinin berkisar antara 6,5 dan 19,5 hari dibandingkan dengan waktu paruh normal 25-35 hari. Peningkatan turnover besi plasma dan penggunaan radiolabel yang buruk mengindikasikan eritropoiesis inefektif. *serum glutamic-oxaloacetic transaminase* (SGOT) serum sering meningkat pada saat diagnosis karena hemolisis. *serum glutamic-pyruvic transaminase* (SGPT) biasanya normal sebelum terapi transfusi tetapi mungkin meningkat kemudian karena

kerusakan hati akibat virus atau virus hepatitis. Tingkat dehidrogenase laktat secara nyata meningkat sebagai konsekuensi dari eritropoiesis inefektif. Haptoglobin dan hemopexin berkurang atau tidak ditemukan. seng serum dapat ditemukan menurun. asam askorbat plasma dan leukosit yang rendah sering terjadi pada pasien thalassemia karena meningkatnya metabolisme vitamin menjadi asam oksalat akibat adanya kelebihan zat besi. Tingkat serum α -tokoferol sering berkurang sampai kurang dari 0,5 mg / dL (Hoffman et al., 2018b).

Abnormalitas koagulasi konsisten dengan penyakit hati (yaitu penurunan faktor II, V, VII, IX, dan X) dapat terjadi pada pasien yang lebih tua dengan hepatitis atau cedera hati akibat zat besi. Hanya jarang sekali ditemukan kelainan yang cukup bermakna yang memerlukan terapi khusus. Namun, kombinasi trombositopenia ringan dari hipersplenisme dan faktor koagulasi yang rendah dan disfungsi trombosit akibat penyakit hati dapat menyebabkan atau memperburuk perdarahan (Hoffman et al., 2018b). Pengukuran konsentrasi zat besi hati menjadi modalitas lain yang umum digunakan untuk mendiagnosis kelebihan zat besi pada thalassemia beta intermedia karena ada hubungan linier antara konsentrasi zat besi hati dan simpanan besi total tubuh. Pada pasien konsentrasi zat besi hati ≥ 5 mg berhubungan dengan banyak komplikasi dan meningkatkan morbiditas (Salah et al., 2017b).

II.2.5 Terapi thalassemia beta

Munculnya terapi modern memiliki dampak besar pada tampilan klinis dan laboratorium pasien dengan thalassemia mayor. Terapi transfusi dan kelasi besi telah memperbaiki banyak manifestasi penyakit yang mencolok. Transplantasi sumsum tulang merupakan pengobatan konklusif utama, yang dapat dijangkau oleh pasien talasemia, namun terapi tersebut menciptakan komplikasi tersendiri (Majolino et al., 2017; Hoffman et al., 2018b).

Terapi transfusi untuk thalassemia beta mayor untuk mempertahankan hemoglobin dalam plasma dan untuk mengoreksi

anemia akibat eritropoiesis endogen. Terapi transfusi darah harus dimulai pada kasus anemia berat setelah konfirmasi diagnosis talasemia. Padahal, individu yang memiliki Hb > 7 g/dl, berbagai aspek seperti retardasi pertumbuhan, peningkatan splenomegali, perubahan wajah serta perluasan tulang, harus diukur. Transmisi darah secara teratur tidak akan terlambat sampai setelah tahun kedua-ketiga, karena antibodi sel darah merah multipel mungkin dikembangkan dan donor darah yang cocok sulit ditemukan. Banyak transfuse darah telah diproyeksikan selama bertahun-tahun; namun, tujuan konvensional yang paling ekstensif pada hemoglobin pra-transfusi mendekati 9 sampai 10 g/dl serta tingkat hemoglobin pasca-transfusi harus 13 sampai 14 g/dl. Hal ini menghambat gangguan organ, keterlambatan pertumbuhan serta malformasi tulang yang dapat menyebabkan kualitas penurunan kualitas hidup (Ali *et al.*, 2021a).

Standar perawatan pasien thalassemia beta meliputi terapi transfusi seumur hidup yang dikombinasikan dengan khelasi farmakologis untuk membatasi akumulasi zat besi, yang secara substansial memperpanjang harapan hidup pasien. Namun pengobatan seumur hidup ini merupakan beban keuangan yang tidak terjangkau bagi banyak ekonomi nasional dan sangat membahayakan kualitas hidup pasien, umumnya mengakibatkan ketidakpatuhan pengobatan dan gejala sisa organ vital. Pengobatan kuratif tradisional adalah transplantasi sumsum tulang alogenik dari donor terkait yang cocok. Namun demikian, kelemahan signifikan terkait dengan implementasinya, termasuk ketersediaan terbatas donor yang cocok dengan *major histocompatibility complex* (MHC), kebutuhan untuk imunosupresi jangka panjang, aplikasi yang sempit untuk pasien termuda dan peningkatan risiko komplikasi imunologis, serta non-mortalitas penolakan pada subjek yang lebih tua dengan kerusakan organ. Hal ini karena hematopoiesis ekstrameduler terkait usia, eritropoiesis kronis yang tidak efektif, dan akumulasi zat besi, mungkin memang berdampak buruk pada pembentukan kompartemen sel induk hematopoietik. Selain itu, transplantasi dari donor alternatif, seperti donor yang tidak terkait atau

donor haploidentik, tidak mewakili pendekatan tanpa komplikasi, karena terkait dengan kelangsungan hidup bebas penyakit yang lebih rendah dan morbiditas dan mortalitas yang lebih tinggi. Terapi gen untuk pengobatan thalassemia beta berguna untuk mencapai pengenalan yang stabil dari gen globin fungsional ke dalam sel induk hematopoietik (HSC) pasien sendiri untuk memperbaiki eritropoiesis yang tidak efektif dan anemia hemolitik, sehingga meniadakan kebutuhan untuk transfusi (Karponi and Zogas, 2019).

II.2.6 Prognosis thalassemia beta

Prognosis untuk pasien dengan bentuk thalassemia β yang parah yang mendapat terapi dengan baik melalui transfusi dan kelasi telah meningkat secara dramatis selama bertahun-tahun (Hoffman *et al.*, 2018b). Kelangsungan hidup pasien thalassemia dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk jenis kelamin, Kematian akibat thalassemia sebesar 45% lebih tinggi pada pria dibandingkan pada wanita. Pasien dengan thalassemia mayor mempunyai risiko kematian yang lebih tinggi karena kondisi yang lebih kritis, kebutuhan yang lebih besar untuk transfusi dan kelebihan zat besi berikutnya dalam tubuh, dan berbagai komplikasi lainnya. Faktor lain yang secara tidak langsung mempengaruhi kelangsungan hidup penderita thalassemia adalah tempat tinggal. Risiko kematian pada pasien talasemia adalah 5 dan 6 kali lebih tinggi di Iranshahr dan Zahedan daripada di Teheran. Perbedaan tingkat kelangsungan hidup di seluruh kota mungkin disebabkan oleh perbedaan dalam layanan perawatan kesehatan yang tersedia, ketepatan waktu diagnosis, tindakan pengobatan yang teratur dan akurat, serta pemantauan dan tindak lanjut rutin oleh tim medis. Usia saat diagnosis ditemukan berbanding terbalik dengan risiko kematian. Dengan kata lain, semakin dini penyakitnya didiagnosis, semakin lama pasien akan bertahan. Peningkatan kelangsungan hidup pasien dapat disebabkan oleh prosedur perawatan dini. Faktor protektif lain dengan hubungan terbalik dengan risiko kematian ditemukan menjadi inisiasi terapi deferoxamine. Inisiasi awal terapi deferoxamine mengurangi kerusakan organ tubuh dan

dengan demikian memperpanjang kelangsungan hidup (Ansari-Moghaddam *et al.*, 2018).

II.3 Thalassemia Beta HbE

II.3.1 Definisi thalassemia beta HbE

Hemoglobin E (HbE) adalah varian Hb karena adanya satu mutasi titik pada rantai β . Pada posisi 26 terdapat perubahan asam amino dari asam glutamik menjadi lisin. Mutasi pada gen β mengganggu ekspresi gen dengan menghasilkan lokasi pemotongan yang berbeda dari biasanya pada mRNA kodon 25-27 di gen globin β . Mutasi ini menyebabkan defisiensi ringan dari produksi β mRNA normal disertai pembentukan β mRNA abnormal. Berkurangnya produksi rantai globin β dapat bermanifestasi menjadi thalassemia β (Windiastruti *et al.*, 2018b).

HbE ($\beta 26\text{Glu} \rightarrow \text{Lys}$) adalah Hb abnormal yang paling sering ditemukan di Asia Tenggara; di beberapa daerah (di perbatasan antara Thailand, Laos, dan Kamboja, yang disebut segitiga HbE) frekuensi gen yang dilaporkan dapat mencapai setinggi 0,50. Frekuensi tinggi ini diperkirakan berasal dari efek perlindungan terhadap malaria. HbE juga ditemukan di daerah endemis malaria lainnya seperti Bangladesh, India, dan Madagaskar. HbE sekarang memiliki distribusi yang luas sebagai akibat dari perpindahan penduduk yang besar dari Asia Tenggara dan Selatan ke Eropa Barat dan Amerika Utara, dan sekarang mungkin merupakan varian Hb yang paling umum di seluruh dunia (Kaushansky *et al.*, 2016b).

Talasemia β HbE merupakan kelainan hemoglobin yang terjadi akibat pertemuan antara gen alel talasemia β dari salah satu orang tua dan gen alel HbE dari orang tua lainnya. Talasemia β HbE dibagi atas tiga golongan berdasarkan beratnya manifestasi gejala klinis yaitu: Talasemia β HbE ringan; hemoglobin antara 9–12 g/dL dan umumnya tidak manifestasi secara klinis dan tidak diperlukan pengobatan. Talasemia β

HbE sedang; umumnya pasien berada dalam golongan ini. hemoglobin antara 6–8 g/dL, manifestasi gejala klinis sama dengan talasemia intermediate. Talasemia β HbE berat; hemoglobin 4–5 g/dL, manifestasi gejala klinis sama dengan talasemia mayor dan diberi penanganan sama dengan jenis tersebut (Zainuddin, Abdullah and Arif, 2016).

II.3.2 Patogenesis thalassemia beta HbE

Patofisiologi talasemia HbE menggambarkan penurunan keluaran HbE bersama-sama dengan tambahan ketidakseimbangan rantai globin sebagai akibat dari pewarisan talasemia. Meskipun studi awal menunjukkan bahwa HbE sedikit tidak stabil dan dapat mengendap di bawah kondisi stres oksidatif, analisis biosintetik selanjutnya menunjukkan sedikit bukti ketidakstabilan dalam sel darah merah pasien dengan HbE thalassemia. Satu-satunya pengecualian adalah jika sel terkena suhu yang meningkat pada tingkat yang mungkin ditemui dalam bentuk infeksi yang parah di mana ada bukti ketidakstabilan (Fucharoen and Weatherall, 2012a).

Hb E/ β -thalassemia dihasilkan dari pewarisan bersama alel -thalassemia dari satu orang tua dan varian struktural Hemoglobin E dari yang lain. Hemoglobin E dihasilkan dari substitusi G→A pada kodon # 26 dari gen globin , yang menghasilkan hemoglobin abnormal secara struktural serta mengaktifkan situs splice samar, menghasilkan pemrosesan messenger RNA (mRNA) yang abnormal. Tingkat mRNA yang disambung secara normal, E, berkurang 30 dan, karena kodon stop yang baru dihasilkan, mRNA yang disambungkan secara abnormal tidak berfungsi. Oleh karena itu, hemoglobin E disintesis pada tingkat yang berkurang, dan berperilaku seperti bentuk ringan dari β -thalassemia. Patofisiologi Hb E/ β -thalassemia terkait dengan banyak faktor termasuk berkurangnya sintesis rantai yang mengakibatkan ketidakseimbangan rantai globin, eritropoiesis yang tidak efektif, apoptosis, kerusakan oksidatif dan kelangsungan hidup sel darah merah yang lebih pendek. Secara umum, tampak bahwa ketidakstabilan hemoglobin E yang diketahui merupakan faktor kecil dalam patofisiologi keseluruhan Hb E/ β -thalassemia, kecuali selama penyakit

demam intercurrent di mana ketidakstabilan tersebut dapat mengakibatkan percepatan hemolisis (Olivieri, Pakbaz and Vichinsky, 2011).

II.3.3 Gejala Klinis

Salah satu ciri yang paling mencolok dari thalassemia beta HbE adalah heterogenitas klinisnya yang luar biasa. Di salah satu ujung spektrum, ada pasien yang perjalanan klinisnya hampir tidak dapat dibedakan dari β -thalassemia mayor yang parah; sedangkan di sisi lain, ada pasien yang tumbuh dan berkembang secara normal tanpa memerlukan transfusi darah, meskipun seringkali pada tingkat hemoglobin yang relatif rendah. Saat lahir, bayi dengan thalassemia beta HbE berat tidak menunjukkan gejala karena HbE tinggi. Ketika produksi HbF menurun dan digantikan oleh HbE pada usia 6-12 bulan, anemia dengan splenomegali berkembang. Tanda-tanda gangguan pertumbuhan muncul selama dekade pertama kehidupan. Keluhan awal bervariasi dari pasien ke pasien, dan beberapa gejala biasanya muncul secara bersamaan (Fucharoen and Weatherall, 2012b).

Pasien dengan HbE homozigot biasanya tidak menunjukkan gejala. Sebagian besar pasien tidak memiliki hepatosplenomegali atau ikterus. Mereka biasanya terdiagnosis selama program skrining atau studi keluarga dari individu dengan gangguan HbE berat, atau pada evaluasi rutin gambaran darah tepi pada pasien dengan mikrositosis yang signifikan tanpa anemia. Pasien dengan thalassemia β^0 -HbE yang berat memiliki gambaran klinis yang sangat mirip dengan thalassemia- β mayor; dengan komplikasi seperti hipersplenisme, kelebihan zat besi, peningkatan kerentanan terhadap infeksi, komplikasi tromboemboli, dan gagal jantung, dan memiliki harapan hidup yang lebih pendek. Pasien thalassemia β -HbE yang telah dilakukan splenektomi memiliki hemolisis intravaskular yang lebih jelas, penanda aktivasi sel endotelia, dan aktivasi koagulasi dengan peningkatan sel Hb bebas, sE-selektin, sP-selektin, *C-reactive protein* sensitivitas tinggi, dan kompleks trombin-antitrombin dibandingkan dengan pasien yang belum dilakukan splenektomi (Kaushansky *et al.*, 2016b).

II.3.4 Pemeriksaan laboratorium beta HbE

Individu dengan HbE-trait mengalami mikrositosis *boderline* (MCV sekitar 80-an) tetapi tidak anemia. Pada homozigot HbE biasanya hanya *borderline* atau anemia ringan (Hb 11 hingga 13 g / dL), tetapi bersifat mikrositik (MCV ~ 70 fL). Hapusan darah tepi menunjukkan sel target, hipokromia, dan mikrositosis. Kerapuhan osmotik sel-sel darah merah menurun. Elektroforesis Hb menunjukkan HbE lebih dari 90 persen dan HbF 5 hingga 10 persen. Teknik kromatografi tertentu yang dapat memisahkan HbE dari HbA₂ menunjukkan peningkatan HbA₂. Pasien dengan bentuk thalassemia β^+ HbE ringan memiliki Hb dalam kisaran 9,0 hingga 9,5 g/dL, sedangkan pasien dengan thalassemia β^+ HbE berat mengalami anemia lebih berat (Hb 6,5 hingga 8,0 g / dL). Individu dengan thalassemia β^0 -HbE memiliki berbagai tingkat anemia, tergantung pada kemampuan mereka untuk menghasilkan HbF; pasien-pasien ini memiliki HbE dalam kisaran 40 hingga 60 persen, dan sisanya adalah HbF. Pasien dengan HbF yang lebih tinggi mengalami anemia lebih ringan. (Kaushansky *et al.*, 2016b).

II.3.5 Terapi thalassemia beta HbE

HbE homozygotes tidak memerlukan terapi apa pun. Pasien dengan thalassemia β^0 -HbE yang berat mirip dengan thalassemia intermedia atau mayor; sebagian besar pasien harus mendapatkan transfusi terus menerus dengan menargetkan Hb sekitar 10 g / dL; kelasi besi harus menjadi bagian dari terapi standar. Splenektomi harus dipertimbangkan ketika hipersplenisme berkembang. Pasien dengan fenotip seperti thalassemia intermedia mungkin memerlukan transfusi sporadis. Hydroxyurea dapat meningkatkan HbF dan mengurangi erythropoiesis yang tidak efektif pada thalassemia β -HbE. AHSCT (termasuk sel punca yang berasal dari darah tali pusat pada satu pasien) juga telah digunakan pada thalassemia β -HbE (Kaushansky *et al.*, 2016b).

Transfusi dilakukan saat diagnosis adalah anemia, yang tidak terlalu membantu karena ada pada semua pasien. Meskipun anemia berat atau akut memerlukan transfusi dan beberapa pasien memerlukan transfusi

teratur setelahnya, penting untuk mengenali bahwa heterogenitas fenotipik mencolok antara pasien ringan dan berat diamati dalam kisaran Hb stabil yang sempit. Perbedaan rata-rata antara kelompok yang paling ringan dan paling parah dalam satu penelitian hanya sekitar 1,5-2,0 g/dL.⁷ Sekarang secara umum dihargai bahwa konsentrasi Hb kondisi mapan mungkin memiliki nilai terbatas dalam menentukan pasien mana yang mungkin memerlukan transfusi reguler. Splenektomi memiliki beberapa manfaat pada pasien talasemia HbE, namun terapi transfusi transien lebih disukai daripada splenektomi. Pasien yang menerima transfusi harus menerima pengobatan kelasi besi sesuai dengan pedoman berbasis bukti. Penilaian kuantitatif zat besi tubuh sekarang dapat dilakukan di negara berkembang dan harus memfasilitasi terapi yang tepat. Bahkan tanpa adanya transfusi, terapi khelasi mungkin diperlukan pada beberapa pasien dengan talasemia HbE karena penyerapan zat besi usus yang berlebihan (Olivieri, 2012).

II.3.6 Prognosis thalassemia beta HbE

Prognosis thalassemia beta HbE tergantung pada fenotip klinis. Pasien dengan fenotip yang lebih ringan cenderung baik. Pasien thalassemia β -HbE yang berat memerlukan transfusi sel darah merah kronis dan terapi kelasi besi; ini menempatkan beban besar pada ekonomi negara-negara di mana penyakit ini sering terjadi meskipun berpotensi menyembuhkan, tidak akan tersedia untuk sebagian besar pasien ini. Diagnosis prenatal dan skrining neonatal harus menjadi bagian penting dari strategi untuk mengurangi beban penyakit. Penggunaan jangka panjang dari hidroksiurea dan agen penginduksi HbF baru lainnya sebagai pemodifikasi penyakit (inhibitor *histone deacetylase* dan inhibitor *DNA methyltransferase-1*) dapat menjadi tambahan penting untuk terapi. (Kaushansky *et al.*, 2016b).

Kelangsungan hidup pada pasien dengan talasemia hemoglobin E lebih pendek dibandingkan dengan thalassemia lainnya atau pada individu tanpa talasemia (kelangsungan hidup kumulatif pada usia 50 tahun diperkirakan sebesar 93,4% dalam kohort besar pasien dengan

thalassemia. intermedia). Kematian dan komplikasi klinis terkait dengan anemia kronis dan kelebihan zat besi. Batu empedu dikaitkan dengan kelangsungan hidup yang lebih baik. Perkembangan subakut yang mencolok dari intoleransi terhadap anemia pada pasien yang lebih tua (usia 27-39 tahun) yang sebelumnya telah berkembang. tanpa transfusi reguler, konsisten dengan penelitian kami sebelumnya tentang perubahan terkait usia dalam adaptasi terhadap anemia berat, dan serupa dengan temuan penelitian sebelumnya pada pasien yang lebih tua dengan thalassemia intermedia yang tidak melibatkan hemoglobin E, yang semuanya telah dimulai pada transfusi terjadwal setelah usia 18 tahun, dan berada dalam rentang usia yang sama (Premawardhena *et al.*, 2022a).

II.4. Hepsidin

II.4.1. Struktur hepsidin

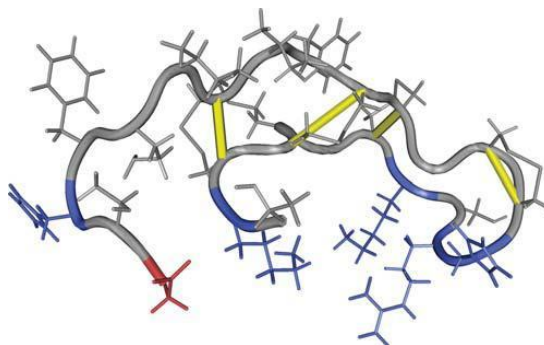
Hepsidin manusia merupakan peptida asam amino 25. Hepatosit adalah sumber utama hepsidin, sedangkan neutrofil dan makrofag yang diaktifkan bakteri adalah sumber lainnya. Struktur hepsidin bioaktif adalah jepit rambut sederhana dengan 8 sistein yang membentuk 4 ikatan disulfida dalam konfigurasi seperti tangga. Urin mengandung 25-asam amino peptida dan juga N-terminus terpotong bentuk 20- dan 22-asam amino hepsidin manusia. Gen hepsidin manusia mengandung 84-asam amino preprohepsidin dengan situs pembelahan furin segera N-terminal ke 25-asam amino hepsidin utama (Gambar 2.8) (Palaneeswari *et al.*, 2013a).



Gambar 2.8. Urutan prepropeptida hepsidin 84-asam amino (Nemeth and Ganz, 2009a)

Keterangan: Anak panah menandakan tiga bentuk residu asam amino yang diisolasi dari urin manusia

Peptida-peptida tersebut menampilkan aktivitas regulasi besi yang lebih rendah dan mungkin merupakan hasil degradasi dari bentuk 25 residu asam amino. Bentuk 25 dan 20 residu asam amino terdeteksi dalam urin dan plasma manusia, sedangkan bentuk 22 residu asam amino hanya teridentifikasi dalam urin. Hal ini menunjukkan bahwa bentuk 22 residu mungkin merupakan produk degradasi hepsidin-25 urin. Struktur molekul hepsidin aktif berbentuk seperti jepit rambut sederhana (*hairpin structure*) dengan jembatan disulfida menghubungkan dua lengan dalam suatu konfigurasi seperti tangga. Analisis struktur hepsidin dengan nuclear magnetic resonance (NMR) spektroskopi menggambarkan bahwa terdapat empat ikatan disulfida antara molekul sistein dalam hepsidin aktif. Sebuah fitur yang tidak biasa yaitu adanya jembatan disulfida antara dua sistein yang berdekatan, yang mungkin bertindak sebagai domain penting dalam aktivitas molekul. Seperti peptida antimikroba lainnya, hepsidin memperlihatkan pemisahan spasial sisi rantai hidrofilik bermuatan positif dari yang hidrofobik; hal ini merupakan karakteristik peptid yang berfungsi merusak membrane bakteri (Nemeth and Ganz, 2009b).



Gambar 2.9 Struktur hepsidin berdasarkan *nuclear magnetic resonance*
Keterangan: struktur utama dan rantai samping ditampilkan. Terdapat empat ikatan disulfida antara molekul sistein, dengan satu ikatan disulfida antara dua sistein yang berdekatan (Nemeth and Ganz, 2009b).

II.4.2. Produksi hepsidin

Hepsidin merupakan peptida kation berukuran kecil yang mengandung banyak cystein. Tahun 2000 Krause dkk menemukan peptida

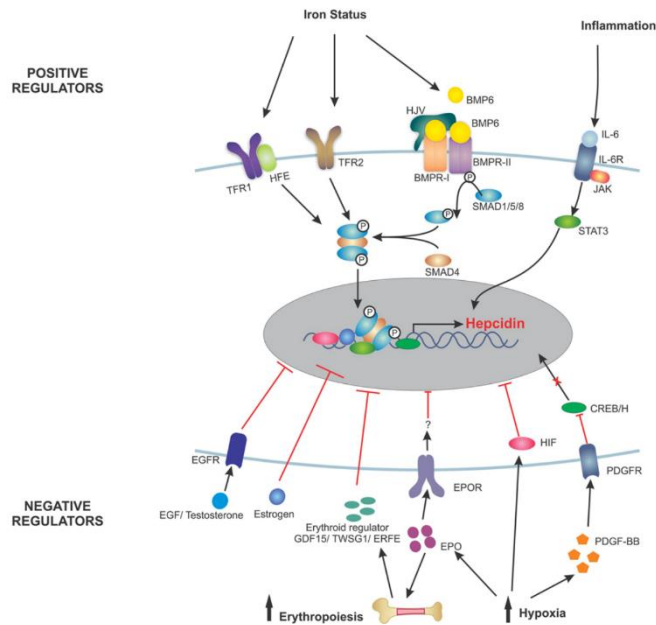
di plasma yang dibentuk di liver dan memiliki fungsi antimikrobal sehingga dinamakan liver expressed antimicrobial properties-1 (LEAP-1). Sedangkan Park dkk tahun 2001 menemukan peptida ini di dalam urine dan diberi nama hepsidin (hepatic bactericidal protein). Hepsidin diproduksi di liver dan dalam jumlah kecil di berbagai organ seperti ginjal, jantung, otot lurik, otak, paru, lambung, dan pankreas (Liu *et al.*, 2022). Hepsidin dikode oleh gen Hepsidin Antimicrobial Peptide (HAMP) yang terdapat pada lengan panjang kromosom 19. Produksi hepsidin dipengaruhi oleh besi, kebutuhan eritropoiesis, hipoksia, dan inflamasi. Pemberian besi meningkatkan produksi hepsidin dan memberikan efek berupa penurunan absorpsi besi pada usus. Sedangkan kondisi anemia dan hipoksia menurunkan ekspresi hepsidin sehingga meningkatkan penyerapan besi pada enterosit (Zehra *et al.*, 2017).

Hepsidin disintesis di liver dalam bentuk 84-asam amino preprohepsidin, yang kemudian dipotong oleh peptidase menjadi 60-asam amino prohepsidin yang kemudian dipecah menjadi 25-asam amino hepsidin (Babitt and Herbert Y. Lin, MD, 2010). Hepsidin merupakan peptida kation dengan bentuk seperti penjepit rambut yang distabilkan dengan ikatan disulfida. Hepsidin 25 merupakan bentuk bioaktif hepsidin. Fraksi ekskresi dari hepsidin adalah 3-5%. Hepsidin difiltrasi oleh ginjal dan kemudian direabsorpsi kembali. Di sirkulasi hepsidin berikatan dengan α -2 makroglobulin. Diperkirakan 89% dari hepsidin berikatan dengan protein (Girelli, Nemeth and Swinkels, 2016).

II.4.3. Regulasi hepsidin

Berbagai proses fisiologis dan patologis mempengaruhi sintesis hepsidin. Penurunan hepsidin akan menyebabkan peningkatan pelepasan besi ke sirkulasi dan peningkatan absorpsi besi di usus (Young and Zaritsky, 2009). Infeksi dan inflamasi akan menyebabkan peningkatan sintesis hepsidin yang akan menyebabkan penurunan penyerapan besi di usus dan penurunan pelepasan besi ke sirkulasi yang merupakan karakteristik dari

anemia penyakit kronis (Weiss et al., 2009). hepsidin dipegaruhi oleh status besi, aktivitas eritropoiesis, hipoksia, dan inflamasi (D'Angelo, 2013).



Gambar 2.10. Regulasi positif dan negative pada hepsidin (Rishi, Wallace and Subramaniam, 2015a)

Bone morphogenetic protein 6; BMPR-I, bone morphogenetic protein receptor-I; BMPR-II, bone morphogenetic protein receptor-II; CREB/H, cAMP response-element binding protein/H; EGF, epidermal growth factor; EGFR, epidermal growth factor receptor; EPO, erythropoietin; EPOR, erythropoietin receptor; ERFE, erythroferrone; GDF15, growth differentiation factor 15; HFE, hemochromatosis protein; HIF, hypoxia-inducible factor; HJV, hemojuvelin; IL6, interleukin 6; IL-6R, interleukin 6 receptor; JAK, Janus kinase; PDGF-BB, platelet-derived growth factor-BB; PDGFR, platelet-derived growth factor receptor; SMAD1/5/8, sma and mothers against decapentaplegic homologue 1/5/8 complex; SMAD4, sma and mothers against decapentaplegic homologue 4; STAT3, signal transducer and activator of transcription 3; TFR1, transferrin receptor 1;

TFR2, transferrin receptor 2; TWSG1, twisted gastrulation BMP signaling modulator 1 (Rishi, Wallace and Subramaniam, 2015b).

1. Regulasi hepsidin oleh status besi

Cadangan besi di liver dan besi yang terikat transferin (Tf-Fe) membentuk sinyal yang akan meningkatkan pembentukan hepsidin di hepatosit (Ramos et al., 2011). Regulasi melalui transferin terjadi melalui kompleks hepatoseluler yang terdiri dari *transferin receptor-1* (TfR1), *transferin receptor-2* (TfR2), dan *hemochromatosis iron protein* (HFE). Gangguan pada TfR2 dan HFE akan menyebabkan penurunan konsentrasi hepsidin melalui sinyal extracellular signal-regulated kinase/mitogen activated protein kinase (ERK/MAPK) dan atau jalur bone morphogenic protein/SMAD (BMP/SMAD) (Wu et al., 2015).

Besi intraseluler berkomunikasi secara autokrin dan parakrin dengan hepsidin melalui BMP-6. Sinyal ekstraseluler bekerja pada reseptor BMP untuk mengaktifkan jalur sinyal SMAD sehingga terjadi peningkatan transkripsi hepsidin. HJV, koreseptor BMP, merupakan protein membran yang penting dalam ekspresi hepsidin. Bila besi rendah, HJV akan dipecah oleh matriptase-2, sebuah protease transmembran serine-6 yang dikode oleh protease transmembran serine 6 (TMPRSS6) yang akan melemahkan sinyal BMP sehingga terjadi penurunan produksi hepsidin (Silvestri et al., 2008a).

2. Regulasi oleh hipoksia

Penurunan hepsidin merupakan efek dari hipoksia terhadap ekspresi eritropoietin melalui reseptor hepsidin di hepatosit (Pinto *et al.*, 2008). Selain itu penurunan konsentrasi hepsidin sebagai respon terhadap hipoksia juga dikaitkan dengan hipoxia inducible factor-1 (HIF-1) yang merupakan efek dari sinyal BMP/SMAD (Silvestri *et al.*, 2008b). Peningkatan aktivitas HIF-1 juga diasosiasikan dengan peningkatan pemecahan HJV oleh matriptase yang juga mengurangi ekspresi hepsidin (Lakhal *et al.*, 2011).

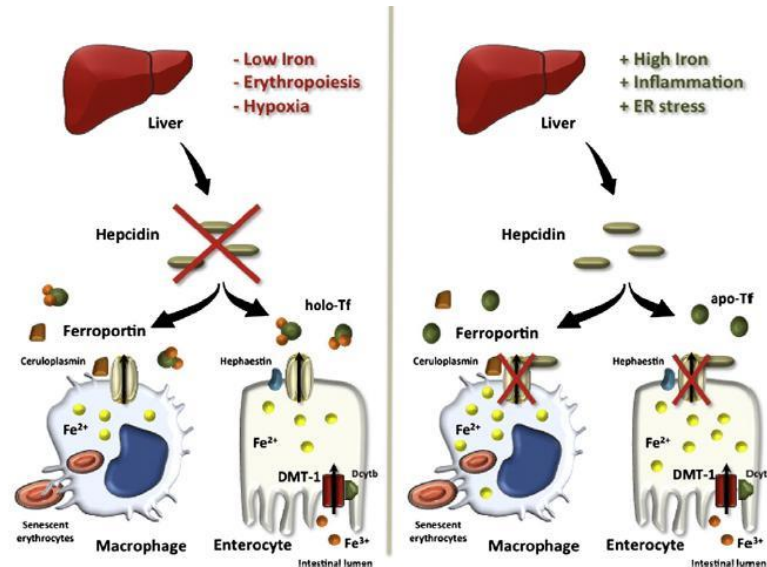
3. Regulasi oleh inflamasi

Pada inflamasi terjadi peningkatan hepsidin sehingga besi terperangkap di sistem retikuloendotelial, khas pada anemia akibat penyakit kronis. Mekanisme yang diketahui dengan pasti adalah melalui aktivasi interleukine-6 (IL-6) yang menempel pada kompleks reseptor gp130 yang akan mengaktifkan janus kinase (JAK) dan Signal Transducer and Activator of Transcription 3 (STAT3) yang menempel pada rantai deoxyribonucleic acid (DNA) hepsidin (Verga Falzacappa *et al.*, 2007). Anemia peradangan merupakan konsekuensi umum dari infeksi kronis, gangguan inflamasi umum noninfeksius dan beberapa jenis kanker, dan juga dapat berkembang selama sepsis. Anemia ini ditandai dengan penurunan serum besi dan kapasitas pengikatan besi (transferrin), peningkatan feritin, dan adanya besi dalam makrofag sumsum tulang, yang menunjukkan gangguan mobilisasi besi dari toko. Hubungan antara infeksi, hipoferemia dan anemia peradangan menunjukkan bahwa mereka adalah bagian dari respon pertahanan host terhadap infeksi. Pasien dengan hipoferemia dan anemia yang disebabkan oleh infeksi atau gangguan inflamasi mengalami peningkatan ekskresi hepsidin urin. Pasien yang menjalani terapi IL-6 eksperimental dan penyakit yang berhubungan dengan kelebihan IL-6 seperti sindrom Castleman, multiple myeloma dan rheumatoid arthritis juvenil juga mengalami anemia. Dengan demikian, kaskade patogen yang diusulkan yang menghasilkan anemia peradangan menyebabkan IL-6 dan mungkin sitokin inflamasi lainnya menjadi hepsidin menjadi hipoferemia, dan kemudian menjadi anemia peradangan (Palaneeswari *et al.*, 2013b).

Hepsidin merupakan acute phase reactant yang nya meningkat pada kondisi inflamasi. Beberapa petanda inflamasi lain yang juga meningkat pada penderita PGK adalah high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) dan laju endap darah (LED). Terdapat peningkatan hs-CRP dan LED seiring dengan peningkatan stadium PGK. hs-CRP meningkat dari 0,46 pada stadium I menjadi 2,46 pada stadium IV dan LED meningkat dari 16 pada stadium I menjadi 49,5 pada stadium IV (Kermani *et al.*, 2012).

4. Regulasi oleh sinyal eritropoiesis

Proses eritropoiesis akan memerlukan besi sehingga akan terjadi penekanan produksi hepsidin oleh liver. Sinyal eritropoiesis didapatkan melalui dua protein yaitu GDF15 dan TWSG1. Kedua protein ini diperkirakan bekerja melalui jalur BMD/SMAD (Tanno *et al.*, 2007).



Gambar 2.11 Pengaturan besi sistemik oleh hepcidin (Gkouvatsos *et al.*, 2014a)

Enterosit duodenum menyerap besi makanan dari lumen intestin melalui *divalent metal transporter* (DMT)1 setelah reduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} oleh Dcytb. Kemudian besi dari eritrosit tua dilakukan oleh makrofag yang dimulai saat fagositosis dan lisis eritrosit. Baik enterosit maupun makrofag melepaskan Fe^{2+} ke plasma melalui ferroportin, yang kemudian dioksidasi menjadi Fe^{3+} oleh hephaestin atau seruloplasmin, dan ditangkap oleh apo-Tf sirkulasi. Kiri: kekurangan zat besi. Sekresi hepcidin ditekan dan ferroportin diekspresikan kuat pada membran basolateral. Penyerapan zat besi maksimal. Kanan: kelebihan zat besi. Hepar menyekresi hepcidin, yang berinteraksi dengan molekul ferroportin pada membran basolateral, sehingga ferroportin diendositososis dan terdegradasi. Ekspor besi dari enterosit menurun, dan sel-sel diisi dengan besi. Akhirnya, enterosit yang penuh dengan besi akan dikeluarkan ke dalam lumen usus (Gkouvatsos *et al.*, 2014b).

Dua sinyal besi yang berpengaruh terhadap produksi hepsidin adalah besi intraseluler (Fe) dan besi di sirkulasi (Tf-Fe₂). Cadangan besi intraseluler akan meningkatkan ekspresi BMP6 yang akan berperan secara autokrin dengan cara berinteraksi dengan bone morphogenic protein 6 receptor (BMPR) di permukaan sel. HJV merupakan koreseptor BMP yang akan memperkuat ikatan BMP. Aktivasi protein SMAD akan mentransduksi sinyal untuk meningkatkan transkripsi hepsidin. Saat besi rendah, matriptase-2 akan memecah HJV sehingga mengakibatkan melemahnya sinyal BMP6. Besi ekstraseluler Tf-Fe₂ akan memediasi sinyal kedua. Tf-Fe₂ menggantikan HFE dari TfR1, sehingga HFE akan berikatan dengan TfR2. Komplek HFE-TfR2 akan mengaktivasi transkripsi hepsidin melalui MAPK dan atau BMP/SMAD (Nemeth and Ganz, 2009b).

II.5 Hepsidin pada thalassemia beta dan beta HBE

II.5.1 Ekspresi gen hepsidin pada thalassemia beta

Defisit pada ekspresi gen yang terkait dengan thalassemia pertama kali dilaporkan pada model tikus eksperimen (C57Bl/6 Hbbth3/+) dengan anemia berat, dan kemudian hepsidin pada penyakit thalassemia/Hb E, beta-thalassemia trait dan Hb E trait. Hepsidin pada pasien dengan thalassemia beta dilaporkan sangat rendah dan serum dari pasien beta-thalassemia juga dilaporkan menekan ekspresi hepsidin di sell hati. Hal ini akan mengakibatkan peningkatan efektivitas penyerapan besi di usus yang tidak terkendali secara terus menerus, sehingga terjadi kelebihan besi (*iron overloading*). Ekspresi mRNA hepsidin di hati pada pasien dengan thalassemia mayor dan intermedia berkorelasi terbalik dengan *soluble transferrin receptor* (sTfR) and erythropoietin (EPO), tapi tidak dengan cadangan besi. Suatu penelitian menunjukkan bahwa penekanan hepsidin pada penyakit beta-thalassemia/Hb berhubungan dengan *loading* besi, saturasi protein pengikat besi, dan sebagai konsekuensinya yaitu kerusakan organ yang diindikasikan dengan korelasi terbalik antara hepsidin dan *non-transferrin bonding iron* (NTBI) pada semua pasien,

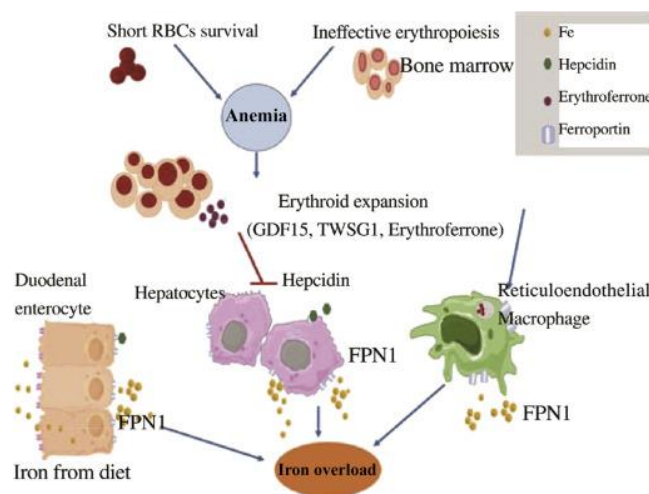
seperti pada korelasi antara NTBI dan ferritin atau LIC, dan korelasi antara *loading* besi dengan ALT (marker penanda kerusakan hati). Jika penekanan hepsidin yang moderat dengan peningkatan penyerapan besi juga terlihat pada karier beta-thalassemia, namun penekanan hepsidin ini tidak terlihat pada karier HbE trait. Pewarisan yang bersamaan dengan alpha-thalassemia mengakibatkan penekanan laju eritropoesis sehingga menghambat laju penekanan hepsidin. Salah satu bentuk eritropoesis inefektif yang tidak terlalu berat, seperti yang terlihat pada alpha-thalassemia, dapat mengakibatkan onset lambat dari kelebihan besi yang lebih ringan (Leecharoenkiet *et al.*, 2016a).

II.5.2. Hepsidin dalam patogenesis thalassemia beta

Anemia, hipoksia di jaringan, dan peningkatan produksi EPO yang terlihat pada thalassemia beta mengakibatkan penekanan hepsidin dan peningkatan penyerapan besi sebagai respon terhadap kebutuhan besi oleh eritroblast. Beberapa inhibitor hepsidin yang dilepaskan dari eritroblast pada proses diferensiasi telah dilaporkan dapat meregulasi ekspresi hepsidin pada thalassemia beta. Salah satu sitokin dari kelompok TGF-beta, yaitu GDF15, terlihat meningkat (*upregulated*) pada serum pasien thalassemia dan dapat menekan ekspresi hepsidin di sel hepatoma atau sel hepatosit manusia yang diisolasi. Nilai sitokin ini di serum dilaporkan sangat meningkat pada pasien dengan thalassemia beta yang homozigot, dan nilainya intermediet pada karier thalassemia alpha dan karier thalassemia trait. Sebaliknya, pasien dengan sel sabit dengan anemia yang berkorelasi dengan hemolysis kronis dari pada eritropoesis inefektif, memperlihatkan tidak ada atau sedikit peningkatan GDF15. TWSG1 adalah factor eritroit kedua yang diidentifikasi sebagai regulator hepsidin. Nilai dari protein ini meningkat pada sumsum tulang, limpa dan hati pada tikus dengan thalassemia. Namun, nilai TWSG1 pada serum pasien thalassemia masih dalam penelitian. Inhibisi hepsidin oleh liver serine protease TMPRSS6 juga dilaporkan. Belakangan ini, hormone eritroferron (ERFE) telah diidentifikasi sebagai regulator sintesis hepsidin yang baru ditemukan. Pada tikus

penelitian dengan thalassemia intermedia, ekspresi ERFE di sumsum tulang belakang dilaporkan meningkat sebagai respon eritropoetin dan memediasi penekanan hepsidin pada saat *stress* eritropoesis. Mancit tanpa gen ERFE dilaporkan gagal menghambat hepsidin dengan cepat setelah perdarahan, dan Mancit tersebut menunjukkan penyembuhan yang terlambat setelah kehilangan darah (Leecharoenkiat *et al.*, 2016a)

II.5.3. Kelebihan besi pada beta thalassemia-beta

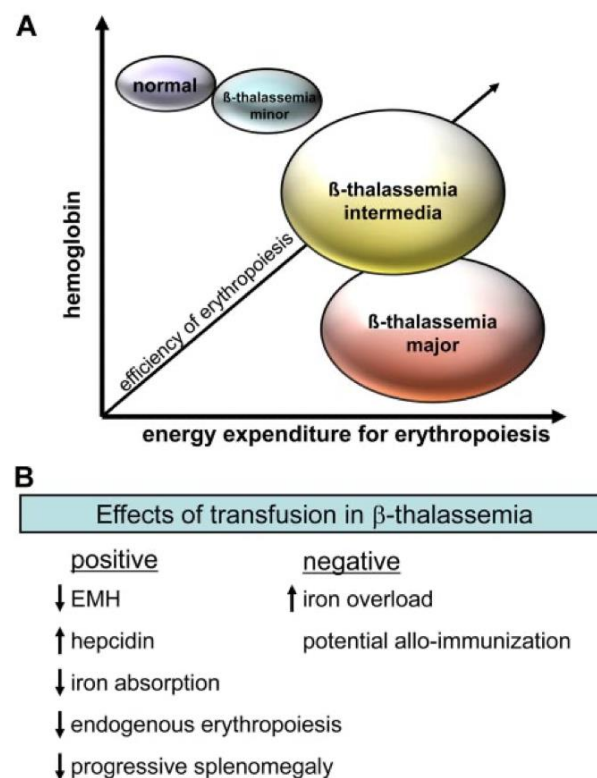


Gambar 2.12 Proses kelebihan besi pada thallasemia-beta (Leecharoenkiat *et al.*, 2016a)

1. Kelebihan besi akibat transfusi

Pada thalassemia beta yang berat dibutuhkan transfuse yang regular untuk menurunkan anemia kronik. Transfuse darah beberapa kali mengakibatkan peningkatan hemolysis sel darah merah dan meningkatkan penyerapan besi di system gastrointestinal yang mengakibatkan iron overload, dan kardiomiopati akibat kelebihan besi menjadi sebab kematian pada pasien yang dependen terhadap transfusi (Borgna-Pignatti *et al.*, 2005). Tubuh manusia kehilangan hanya sekitar 1-2 mg besi perhari, dimana dibandingkan dengan satu unit transfuse darah mengandung sekitar 200 mg besi (Arthur W. Nienhuis and Nathan, 2012).

Seorang pasien yang mendapatkan 25 unit transfusi pertahun dapat mengakumulasi 5 gr besi pertahunnya jika tidak mendapatkan terapi kelasi. Kelebihan besi di dalam tubuh dapat berakibat sangat toksis pada semua sell dan dapat mengakibatkan kerusakan organ yang serius dan irreversible, seperti sirosis, diabetes, penyakit jantung, dan hipogonadisme yang dimana kerusakan-kerusakan organ ini dapat mengakibatkan morbiditas dan mortalitas jika tidak diterapi (Ginzburg and Rivella, 2011a). Kelebihan besi dapat diestimasi dengan mengukur serum ferritin, konsentrasi besi di hati, ekskresi besi di urin dan level *total iron-binding capacity* (TIBC). Estimasi konsentrasi besi di hati dengan MRI merupakan modalitas yang paling umum untuk mengevaluasi kelebihan besi pada thalassemia mayor (Henninger *et al.*, 2012). Peningkatan *overload* besi juga dilaporkan pada pasien yang tidak dependen pada transfusi (Musallam, Cappellini and Taher, 2013). *Carrier* thalassemia beta dan pasien dengan mutasi hestidin ke asam aspartate (H63D) pada kodon 63 pada gen HFE memperlihatkan keadaan kelebihan besi, yang mana hal ini mengindikasikan bahwa mutasi H63D mempunyai efek modulasi pada penyerapan besi (Nadkarni *et al.*, 2017).



Gambar 2.13 Efisiensi dari eritropoesis dan efek transfuse pada thalassemia beta (Ginzburg and Rivella, 2011b)

Pada Gambar **(A)**, keparahan darai pneyakit bergantung pada derajat anemia dan penggunaan energi sisteik oleh eritropoesis. Sebagai contoh, pada individu yang menghasilkan 6 gr hemoglobin membutuhkan ekspansi eritropoesis ekstramedullar (expansion of extramedullary erythropoiesis (EMH)) di hati dan limpa, sehingga menimbulkan splenomegaly dan perubahan arsitektur tulang, dan penggunaan energi sistemik eritropoesisnya juga tinggi. Meskipun individu ini mungkin akan diklasifikasikan sebagai thalassemia intermedia, inisiasi dari transfuse kronik mungkin akan meningkatkann kulaitas hidupnya pada kasus seperti ini. **(B)** transfuse mempunyai beberapa keuntungan pada thalassemia beta, meskipun kelebihan besi sebagai konsekuensinya dan kemungkinan allo-immunisasi merupakan komplikasi yang dapat memperlemah pasien (Ginzburg and Rivella, 2011b).

2. Patofisiologi kelebihan besi (*iron overload*) pada thalassemia dependent transfuse (TDT) dan thalassemia yang tidak dependent terhadap transfuse (NTDT).

Tubuh manusia tidak mempunyai mekanisme fisiologis untuk membuang kelebihan penambahan besi yang disebabkan oleh transfuse darah. Setiap satu kantung transfuse darah terdapat sekitar 200-250 mg besi elemental. Pada TDT, besi akibat transfuse akan terakumulasi sebanyak 0.3 -0.6 mg/kg per hari dengan mengasumsikan jumlah transfuse sebanyak 2 sampai 4 U paket sel darah merah. Sel darah merah yang sudah tua akan di fagositosis makrofag retikikuloendotelial. Hasilnya, besi seluler yang labil akan dilepaskan ke plasma untuk berikatan dengan transferrin (Coates, 2014a). Setelah ikatan transferrin tersaturasi, besi yang tidak berikatan dengan transferrin akan siap untuk ditransportasi melalui chanel kalsium di hati (hepatosit), jantung (miosit jantung), dan kelenjar endokrin. Akumulasi besi pada organ yang berbeda akan mengakibatkan komplikasi klinis yang berbeda akibat kelebihan besi. Reaktif oksigen yang diproduksi oleh besi yang tidak berikatan dengan transferrin berkontribusi terhadap disfungsi seluler, apoptosis dan nekrosis di organ target. Transferin adalah protein transport besi yang paling utama, dan dapat berikatan dengan 2 molekul Fe^{3+} . Transferin kemudian akan berikatan dengan reseptor transferrin 1 (TfR1) dan transferrin reseptor 2 (TfR2). Transferrin kemudian di endositosis. Karena keadaan asam di lisosom, Fe^{3+} kemudian dilepaskan dari transferrin, kemudian tereduksi menjadi Fe^{2+} , dan akan mencapai sitosol melalui divalent metallic transporter 1. Jika TfR2 diekspresikan secara khusus di hati dan usus, TfR1 di ekspresikan kebanyak jaringan, termasuk precursor eritroid, hati, dan miokardium. Afinitas TfR1 untuk besi lebih tinggi dibandingkan dengan TfR2 sebanyak 25 kali lipat. TfR2 tidak mempunyai element yang responsive terhadap besi, sehingga penambahan besi berlangsung terus di hati meskipun konsentrasi besi di hati yang tinggi (LIC; liver iron concentration),

sedangkan TfR1 akan terregulasi menurun dengan peningkatan saturasi transferrin (Cappellini *et al.*, 2014a).

Selama ini yang diketahui secara umum bahwa komplikasi klinis yang paling penting dari kelebihan besi adalah siderosis jantung, yang mana merupakan asal penyebab aritmia dan gagal jantung, dan menjadi penyebab mortalitas utama pada TDT. Disfungsi hepatic dan endokrin *iron overloading* juga banyak terlihat pada pasien-pasien TDT (Cappellini *et al.*, 2014b). Faktanya, penurunan mortalitas akibat penyakit jantung dengan meningkatnya diagnosis dan manajemen *iron overload* memberikan penjelasan mengapa terjadi peningkatan yang relative terhadap kasus kematian akibat kegagalan fungsi hati, yang mana hal ini tertulis di data registrasi di Eropa (Voskaridou, Christoulas and Terpos, 2012). Kemampuan untuk mendeteksi kelebihan besi secara non-invasive memudahkan pengukuran perbedaan jumlah endapan besi di berbagai organ pada TDT. Beberapa penelitian telah memperlihatkan perbedaan geografis dalam prevalensi kelebihan besi pada populasi thalassemia yang berbeda (Aydinok *et al.*, 2015). Sebagai contoh, siderosis jantung terlihat mempunyai efek terhadap lebih dari 25% pasien dengan thalassemia mayor di negara asia tenggara, yang mana hanya sekitar 15-20% pada pasien di Eropa dan timur tengah (Carpenter *et al.*, 2013). Beberapa penelitian translasional ternyata kurang/tidak bisa menghubungkan variasi distribusi geografis dan lingkungan atau perbedaan genetik. Perbedaan ini juga mungkin menggambarkan bahwa terjadi variasi secara geografis pada terapi kelasi besi (Viprakasit *et al.*, 2013).

Dengan meningkatnya pemeriksaan dan penelitian terkait NTDT dalam beberapa decade terakhir, terlihat bahwa kelebihan besi lebih menonjol secara diferensial di hati dibandingkan dengan miokardium pada pasien yang tidak dependen atau tidak regular dengan transfuse sel darah merah. Hal ini terlihat jelas dalam beberapa penelitian observasional yang menunjukkan bahwa tidak adanya siderosis hati bahkan pada pasien

dengan kelebihan besi yang berat di hati. Apakah hal ini terkait dengan mekanisme kelebihan besi pada NTDT atau *loading* besi yang lambat, tapi belum jelas. Telah diketahui bahwa kelebihan besi pada NTDT berhubungan dengan peningkatan penyerapan besi di intestinal yang difasilitasi oleh penekanan hepsidin dan ekspansi eritroid. Setiap peningkatan 1 mg/g berat kering (dw) pada LIC, maka akan meningkatkan kemungkinan dari thrombosis, hipertensi pulmonal, hypotiroidisme, osteoporosis dan hypogonadisme pada NTDT. Pasien-pasien dengan NTDT dengan *iron overload* juga mempunyai kemungkinan yang besar untuk menunjukkan disfungsi ginjal. Sintesis hepsidin oleh hati normalnya menekan pelepasan besi oleh precursor eritroid, hepatosit, membrane basolateral hepatosit, dan makrofag dengan berikatan dengan ferroportin, yang mana memediasi pelepasan besi (Coates, 2014b).

Oleh karena itu, penekanan hepsidin sekunder akibat eritropoesis yang inefektif dapat mengakibatkan *upregulation* dari transportasi besi yang telah diserap melalui membrane basolateral enterosit ke sirkulasi sistemik. Juga telah diperlihatkan bahwa stimulasi eritropoetik dapat menstimulasi produksi eritroferon oleh sumsum tulang dan precursor limpa eritroid, yang mana ini berperan langsung di hati dalam menghambat produksi hepsidin (Kautz L, 2014). Factor eritroid lain, termasuk growth differentiation factor and twisted-gastrulation 1, juga dilaporkan berpengaruh pada proses ini, namun eritroid factor ini tidak di *upregulate* pada model tikus beta thalassemia (Camaschella and Nai, 2016).

Tabel 1. Komplikasi akibat iron overloading pada thalassemia dependent transfuse (TDT) dan thalassemia yang tidak dependent terhadap transfuse (NTDT)

	Complications*	
	TDT	NTDT
Cardiovascular	Cardiac siderosis, left ventricular heart failure	Pulmonary hypertension, right ventricular heart failure, venous thrombosis
Liver	Liver fibrosis, liver cirrhosis, viral hepatitis	Liver fibrosis, liver cirrhosis, hepatocellular carcinoma
Endocrine	Hypothyroidism, hypoparathyroidism, growth retardation, hypogonadism, osteoporosis, diabetes mellitus	Osteoporosis
Other		Leg ulcers, gallstones, extramedullary hematopoietic tumors, silent cerebral ischemia

*All complications can happen in both TDT and NTDT. This table mentions the distribution of the more commonly prevalent complications in each group based on available studies.

Tabel 1 memperlihatkan distribusi komplikasi yang berkaitan dengan kelebihan besi pada TDT dan NTDT. TDT telah diasosiasikan dengan banyak komorbiditas, termasuk gagal jantung sekunder akibat siderosis jantung dan kondisi anemia kronik, aritmia jantung, fibrosis hati, hepatitis virus kronik, dan penyakit-penyakit endokrin (hipotroidisme, hiporaratiroidisme, retardasi pertumbuhan, hipogonadisme, penyakit-penyakit tulang, dan diabetes). Studi OPTIMAL CARE memperlihatkan hubungan antara NTDT komplikasi yang mirip (Fullmer *et al.*, 2010a). Komplikasi yang paling umum yang terkait dengan NTDT yaitu osteoporosis, hematopoiesis ekstrasmeduller, hipogonadisme, hipertensi pulmonal, penyakit-penyakit hati, dan ulkus tungkai. Hipotiroidisme, gagal jantung, dan diabetes melitus merupakan komplikasi yang lebih jarang terjadi pada NTDT dibandingkan dengan TDT. Tidak seperti pada pasien-pasien TDT, yang mana memperlihatkan klinis kelebihan besi di awal-awal kehidupannya setelah 10 sampai 20 transfusi, pasien dengan NTDT lebih cenderung menunjukkan gejala kelebihan besi setelah umur 10-15 tahun (Fullmer *et al.*, 2010b).

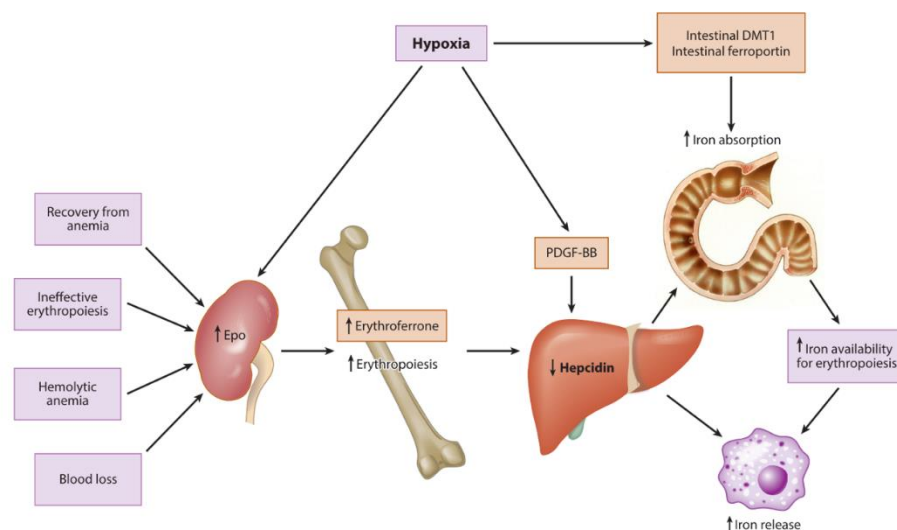
Status besi diatur oleh sistem pengaturan yang dikenal sebagai homeostasis, yang melibatkan interaksi banyak faktor. Homeostasis besi diatur secara fisiologis dengan mengontrol penyerapan, penyimpanan, dan daur ulangnya. Beberapa faktor yang menyebabkan penyerapan zat besi adalah penyimpanan zat besi, tingkat aktivitas erythropoietic di sumsum

tulang, tingkat hemoglobin (Hb), konsentrasi oksigen dalam darah, dan sitokin inflamasi. Hepsidin, hormon peptida yang sebagian besar disintesis di hepatosit, adalah pengatur utama homeostasis besi yang mengontrol besi serum melalui degradasi ferroportin di enterosit dan makrofag. Pengikatan ferroportin ke hepsidin mendorong fosforilasi, internalisasi, dan degradasinya, yang membatasi masuknya besi ke dalam sirkulasi enterosit atau makrofag. Di bawah ekspresi hepsidin yang rendah, penyerapan besi dari makrofag dan penyerapan besi usus meningkat, sedangkan ekspresi hepsidin tinggi menghambat penyerapan besi. Regulasi hepsidin diinduksi oleh defisiensi besi, perluasan eritropoiesis, anemia, hipoksia, dan kemungkinan faktor lain. Pada kondisi thalassemia beta mayor akan meningkatkan kebutuhan zat besi dalam tubuh, yang mengirimkan sinyal untuk meningkatkan penyerapan. Kondisi ini menyebabkan keadaan kelebihan zat besi pada β -thalassemia mayor (Susanah *et al.*, 2021).

II.5.4. Eritropoesis Inefektif pada thalassemia beta yang menekan hepsidin

Pasien dengan thalassemia beta mengalami imbalance gen globin, dengan kelebihan rantai alpha globulin yang memprespipitasi dan merusak eritroblast, yang mana hal ini mengakibatkan eritropoesis yang tidak efektif, ditandai dengan peningkatan apoptosis sel darah merah dan timbulnya anemia. Pasien dapat menunjukkan ekspansi sumsum eritroid, yang mana berpotensi mengakibatkan deformitas tulang dan eritropoesis ektopik dan ekstrasmedullar. Eritropoesis di stimulasi dengan tingginya eritropoesis, dimana hormone ini di sintesis oleh ginjal dalam respon terhadap anemia dan pada pasien thalassemia beta yang membutuhkan transfuse; yang mana transfusi meringankan inefektifitas eritropoesis, mencegah deformitas tulang yang berat, dan meningkatkan kualitas hidup serta pertumbuhan (Cappellini *et al.*, 2014b). Pasien dengan thalassemia beta intermedia dapat juga menunjukkan gejala ini secara sebagian namun mempunyai kualitas hidup yang dapat di toleransi walaupun tanpa transfuse. Sebagai tambahan pada beta thalassemia homozigot dan

homozigot compound, fenotip ini dapat terekapitulasi sebagai (walaupun ditandai dengan klinis yg berbeda-beda, namun sering tidak diketahui penyebabnya (Premawardhena *et al.*, 2005) dengan pewarisan yang bersamaan dengan varian HbE dengan trait beta globulin thalasemik (thalassemia beta HbE); pasien-pasien ini bias saja menunjukkan kondisi klinis yang berbeda-beda dari subklinis atau ringan sampai kondisi yang menunjukkan thalassemia intermedia atau bahkan thalassemia dengan transfuse (Pasricha *et al.*, 2016a)



Gambar 2.14 Mekanisme supresi eritroid oleh hepsidin

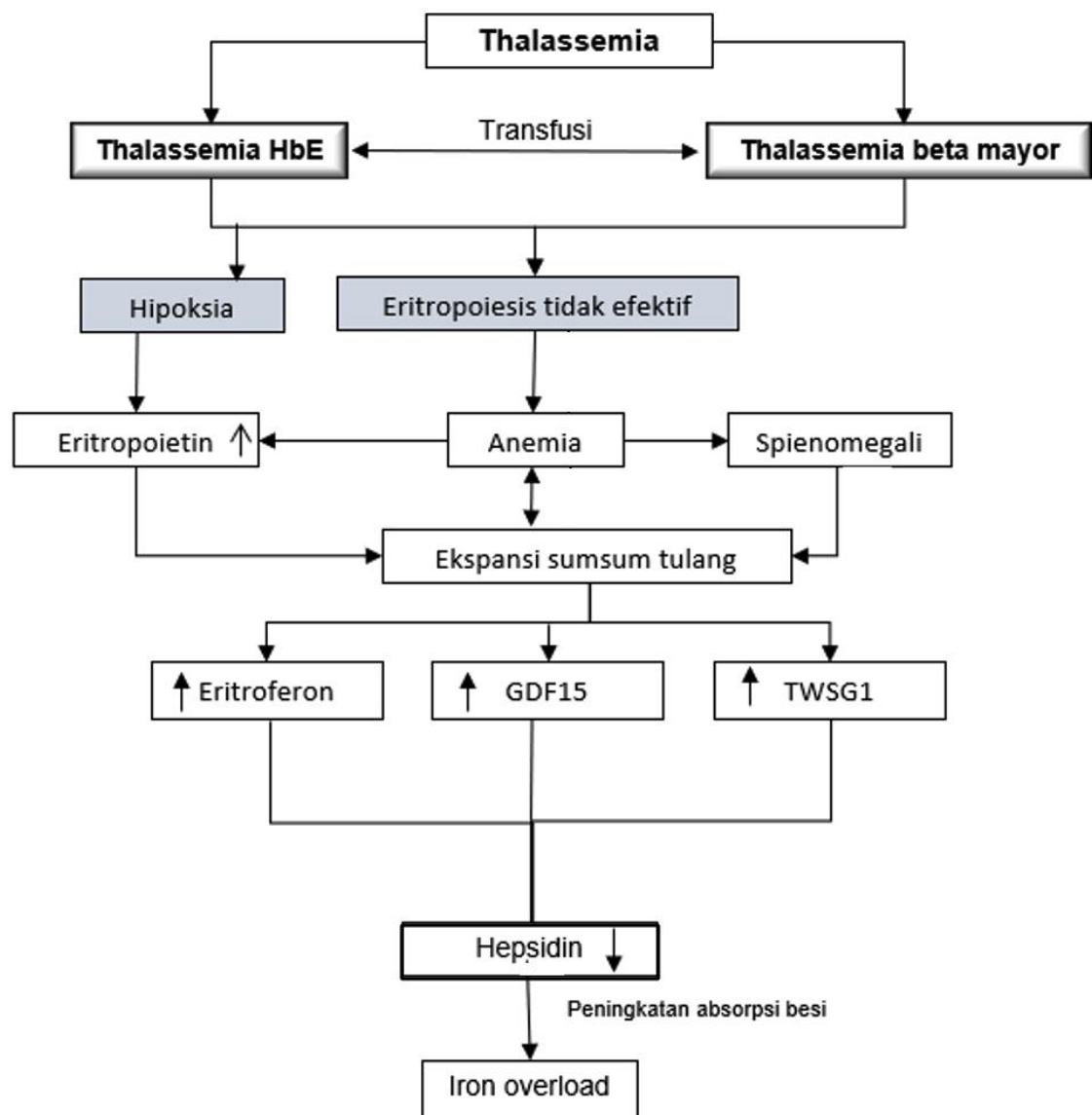
Kehilangan darah, anemia akibat inflamasi, anemia hemolitik, dan penyakit genetic yang mengakibatkan eritropoesis yang tidak efektif yang menyebabkan anemia (seperti pada thalassemia beta) akan mengirimkan sinyal ke ginjal, sehingga akan meningkatkan produksi eritropoetin. Eritropoetin (EPO) meningkatkan eritropoesis sumsum tulang, dan kombinasi antara peningkatan eritropoesis dan peningkatan EPO meningkatkan ekspresi erythroferrone oleh eritloblast. Erythroferrone bersirkulasi di dalam plasma agar menekan hepsidin, sehingga mefasilitasi absorpsi dan daur ulang besi. Hipoksia dapat berperan komplementer dalam meningkatkan penyerapan dalam konteks berikut: pertama, hipoksia dapat

meningkatkan produksi EPO, yang mana hal ini menstimulasi aksis eritropoesis- erythroferrone; yang kedua, hipoksia dapat secara langsung meningkatkan penyerapan besi melalui ekspresi of intestinal divalent metal transporter 1 (DMT1) dan ferroportin (Pasricha *et al.*, 2016b).

Semua pasien dengan thalassemia beta mengalami kelebihan besi, bahkan pada mereka dengan thalassemia intermedia yang tidak membutuhkan transfuse. Kelebihan besi, terutama ketika disebabkan oleh transfuse, dapat merusak jantung, dan bahkan pada pasien yang tidak dependen dengan transfuse sering kali muncul kelebihan besi (hal ini menyebabkan sirosis dan pada akhirnya menyebabkan kegagalan hati dan/atau kanker hati) dan disfungsi endokrin (khususnya kegagalan pituitary, hipogonadisme, dan diabetes) (Porter and Garbowski, 2014). Kelebihan besi ini dimediasi oleh penyerapan besi yang meningkat yang berlangsung sangat lama, bahkan jika cadangan besi sudah meningkat dan banyak. Suatu penelitian dengan isotop yang stabil pada anak dengan thalassemia beta yang transfusinya terlambat memperlihatkan kenaikan penyerapan besi yang signifikan, yang mana hal ini dinormalisasi dengan transfuse. hepsidin pada thalassemia intermedia, yang mana pada tipe ini transfuse tidak dibutuhkan dan eritropoesis-nya lebih tinggi dibandingkan pada thalassemia mayor, memperlihatkan jumlah cadangan besi yang rendah (rasio hepsidin-ferritin) (Kearney *et al.*, 2007). hepsidin pada thalassemia beta mayor umumnya tertekan sesaat sebelum transfuse, dan meningkat setelah transfuse, dan juga berhubungan dengan konsentrasi Epo dan aktivitas biomarker eritroid pada saat sebelum dan setelah transfuse [soluble transferrin receptor and growth differentiation factor 15 (GDF-15)]. Lebih lanjut, peningkatan hepsidin pos-transfusi dihubungkan dengan perubahan baseline dari EPO dan GDF-15, yang mana hal ini mendukung hipotesis bahwa proses modulasi eritropoesis mengatur secara langsung penurunan hepsidin pada manusia (Pasricha *et al.*, 2013b). Pada pasien-pasien thalassemia beta HbE di Sri Lanka yang tidak dependen terhadap transfuse, bahkan dengan peningkatan loading besi yang ditandai

dengan peningkatan ferritin serum dan konten besi di hati dengan pemeriksaan MRI, hepsidin terlihat ditekan/menurun. Juga, bahkan pada populasi yang sehat yang mana sebagai karier beta thalassemia trait menunjukkan peningkatan biomarker eritropoesis dan sedikit penekanan hepsidin jika dibandingkan dengan mereka yang bukan karier (Jones, S. R. Pasricha, *et al.*, 2015b) dan mereka juga dapat menunjukkan peningkatan penyerapan besi (Zimmermann *et al.*, 2008). Pasien dengan penyakit hemoglobin E, suatu kondisi thalassemia yang lebih ringan yang mana ekspresi rantai alpha globulinnya ditekan oleh produksi berlebihan dari rantai beta, juga menunjukkan fenotip kelebihan besi namun nilainya definitif (Pasricha *et al.*, 2016b).

II.6 Kerangka Teori



Gambar 3.15 Kerangka teori